

TCVN 6123 : 2007

ISO 3596 : 2000

Xuất bản lần 2

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT –
XÁC ĐỊNH CHẤT KHÔNG XÀ PHÒNG HOÁ
PHƯƠNG PHÁP DÙNG CHẤT CHIẾT DIETHYL ETE**

*Animal and vegetable fats and oils – Determination of unsaponifiable matter
Method using diethyl ether extraction*

HÀ NỘI – 2007

Lời nói đầu

TCVN 6123 : 2007 thay thế TCVN 6123 -1 : 1996 và TCVN 6123 -2 : 1996;

TCVN 6123 : 2007 hoàn toàn tương đương với ISO 3596 : 2000;

TCVN 6123 : 2007 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC/F2 *Dầu mỡ động vật và thực vật* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Dầu mỡ động vật và thực vật – Xác định chất không xà phòng hoá – Phương pháp dùng chất chiết diethyl ete

Animal and vegetable fats and oils – Determination of unsaponifiable matter – Method using diethyl ether extraction

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp dùng chất chiết diethyl ete để xác định hàm lượng chất không xà phòng hoá của dầu mỡ động vật và thực vật.

Phương pháp này không áp dụng cho sáp. Phương pháp này cho kết quả gần đúng với các loại mỡ có hàm lượng chất không xà phòng hoá cao, ví dụ: đối với các loại mỡ thu được từ các loài động vật biển.

Có thể sử dụng phương pháp qui định trong ISO 18609 nếu do điều kiện khí hậu hoặc yếu tố luật pháp không cho phép sử dụng diethyl ete.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 6128 : 2007 (ISO 661 : 2003), Dầu mỡ động vật và thực vật. Chuẩn bị mẫu thử.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

3.1

chất không xà phòng hoá (unsaponifiable matter)

tất cả các chất có trong sản phẩm, sau khi đã xà phòng hoá bởi kali hydroxit (KOH) và chiết bởi dung môi quy định không bay hơi dưới các điều kiện thao tác đã được qui định.

4 Nguyên tắc

Xà phòng hoá dầu hoặc mỡ bằng cách đun sôi dưới dạng hồi lưu với dung dịch kali hydroxit trong etanol, chiết chất không xà phòng hoá từ dung dịch xà phòng bằng dietyl ete cho bay hơi dung môi và cân cặn sau khi đã sấy khô.

5 Thuốc thử

Tất cả các loại thuốc thử phải thuộc loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng là nước cất hoặc khử ion hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

5.1 Dietyl ete, mới chưng cất không có peroxit và cặn.

5.2 Axeton.

5.3 Kali hydroxit dung dịch trong etanol, $c(\text{KOH}) \approx 1 \text{ mol/l}$.

Hoà tan 60 g kali hydroxit (KOH) trong 50 ml nước và pha loãng tới 1 000 ml bằng etanol 95 % (theo thể tích). Dung dịch phải không màu hoặc màu vàng nhạt.

5.4 Kali hydroxit (KOH), dung dịch nước, $c(\text{KOH}) \approx 0,5 \text{ mol/l}$.

5.5 Dung dịch phenolphthalein, 10 g/l trong etanol 95 % (theo thể tích).

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

6.1 Bình cầu đáy tròn dung tích 250 ml, có cổ mài.

6.2 Bộ sinh hàn, có chỗ nối mài gắn khít với bình (6.1).

6.3 Phễu chiết, có dung tích 500 ml, có vòi khoá và nút làm bằng polytetrafluoroetylen.

6.4 Nồi cách thuỷ.

6.5 Tủ sấy, có thể duy trì nhiệt độ ở $103 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

7 Lấy mẫu

Điều quan trọng là mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện, không bị hư hỏng và thay đổi trong quá trình bảo quản và vận chuyển.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này, nên lấy mẫu theo TCVN 2625 : 2007 (ISO 5555 : 2001).

8 Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu thử được chuẩn bị theo TCVN 6128 : 2007 (ISO 661 : 2003).

9 Tiến hành thử

9.1 Phần mẫu thử

Cân khoảng 5 g mẫu thử chính xác đến 0,01 g (điều 8) cho vào bình 250 ml (6.1).

9.2 Xà phòng hoá

Thêm 50 ml dung dịch kali hydroxit (5.3) và thêm vài hạt chống trào, gắn bộ sinh hàn (6.2) vào bình và đun sôi nhẹ trong 1 h. Ngừng đun và thêm 100 ml nước từ phía trên bình sinh hàn và xoay.

Nếu như chiết chất không xà phòng hoá với mục đích xác định thành phần tocopherol thì việc thêm pyrogallol là cần thiết, chiết phải hoàn thành nhanh (trong vòng 30 min).

9.3 Chiết chất không xà phòng hoá

Sau khi làm nguội chuyển dung dịch sang phễu chiết 500 ml (6.3). Rửa bình và chất chống trào vài lần với diethyl ete (5.1), dùng tổng cộng 100 ml và rót nước rửa sang phễu chiết. Đậy nút và lắc đều liên tục trong vòng 1 min, thỉnh thoảng cân bằng áp suất bằng cách lật phễu chiết, thỉnh thoảng mở khoá vòi.

Để yên cho đến khi hai pha được tách ra hoàn toàn, sau đó gạt lớp lắng phía dưới càng nhiều càng tốt vào phễu chiết thứ hai.

Nếu hình thành thể nhũ thì phải phá huỷ nó bằng cách thêm một lượng nhỏ etanol hoặc kali hydroxit đậm đặc hoặc dung dịch natri clorua.

Chiết dung dịch xà phòng ở trong etanol ít nhất hai lần, theo cùng một phương thức với 100 ml diethyl ete. Gộp ba dịch chiết của ete vào một phễu chiết có chứa 40 ml nước.

9.4 Rửa phần chiết ete

Xoay nhẹ phễu chiết chứa các chất chiết hỗn hợp và 40 ml nước.

CHÚ Ý – Lắc mạnh trong giai đoạn này là nguyên nhân tạo nên thể nhũ.

Để cho các lớp tách riêng hoàn toàn, tháo bỏ lớp nước phía dưới. Rửa dung dịch ete ít nhất hai lần, mỗi lần 40 ml nước, lắc mạnh, mỗi lần như vậy loại bỏ lớp nước ở dưới và mỗi lần giữ lại 2 ml sau đó xoay phễu chiết quanh trục của nó. Đợi vài phút để thu lớp nước còn lại. Hút hết nước đó, đóng khoá vòi, khi dung dịch ete vừa chạm tới khoá vòi.

Rửa dung dịch ete với 40 ml dung dịch kali hydroxit (5.4), 40 ml nước và rửa lại với 40 ml dung dịch kali hydroxit, sau đó rửa lại ít nhất là 2 lần với 40 ml nước. Tiếp tục rửa với nước đến khi nước rửa không còn màu hồng, khi thêm một giọt phenolphthalein (5.5).

9.5 Bay hơi dung môi

Chuyển lượng dung dịch ete mỗi lần một ít qua đỉnh phễu chiết sang bình 250 ml (6.1) đã sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 103 °C (6.5), được làm nguội và cân chính xác đến 0,1 mg. Cho bay hơi dung môi trong nồi cách thuỷ (6.4).

Thêm 5 ml axeton (5.2) và cho bay hơi dung môi hoàn toàn trong luồng không khí nhẹ, giữ bình nằm nghiêng trong nồi cách thuỷ khi quay.

9.6 Sấy khô cặn và tiến hành xác định

9.6.1 Sấy phần cặn trong tủ sấy (6.5) ở 103 °C trong 15 phút và để bình ở trạng thái nằm ngang. Làm nguội trong bình hút ẩm và cân chính xác đến 0,1 mg. Lặp lại chu kỳ sấy 15 phút đến khi sự chênh lệch của khối lượng giữa hai lần cân liên tiếp nhỏ hơn 1,5 mg. Nếu khối lượng thu được sau ba lần sấy vẫn thay đổi thì chất không xà phòng hoá có thể bị nhiễm bẩn và phải xác định lại.

CHÚ THÍCH: Nếu có thể được, có thể dùng máy cô quay chân không, đặc biệt nếu như chất không xà phòng hoá, cần xác định tiếp.

9.6.2 Nếu cần hiệu chỉnh axit béo tự do sau khi cân phần cặn, thì hoà tan nó trong 4 ml dietyl ete (5.1) và sau đó thêm 20 ml etanol đã được trung hoà tới màu hồng nhạt, khi thêm vài giọt phenolphthalein (5.4) làm chất chỉ thị. Chuẩn độ với dung dịch kali hydroxit (KOH) trong etanol chuẩn, $c(\text{KOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$, cho tới khi màu cuối cùng như nhau. Tính khối lượng axit béo tự do theo axit oleic và hiệu chỉnh khối lượng của cặn (xem điều 10).

9.7 Số phép xác định

Thực hiện hai phép xác định trên cùng một mẫu thử.

9.8 Phép thử trắng

Tiến hành thử mẫu trắng cùng một trình tự và cùng một lượng của các loại thuốc thử, nhưng bỏ qua phần mẫu thử. Nếu phần cặn lớn hơn 1,5 mg, thì xem xét lại phần thao tác kỹ thuật và thuốc thử.

10 Biểu thị kết quả

Hàm lượng chất không xà phòng hoá tính theo phần trăm (%) khối lượng của mẫu thử, bằng công thức sau:

$$\frac{100(m_1 - m_2 - m_3)}{m_0} \%$$

trong đó:

m_0 là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam;

m_1 là khối lượng cặn, tính bằng gam;

m_2 là khối lượng cặn thu được của mẫu trắng, tính bằng gam;

m_3 là khối lượng của axit béo tự do nếu có (xem 9.6.2), và bằng 0,28 V.c.

trong đó:

V là thể tích của dung dịch chuẩn kali hydroxit trong etanol đã dùng để chuẩn độ, tính bằng mililit;

c là nồng độ chính xác phần của dung dịch chuẩn kali hydroxit trong etanol, tính bằng mol trên lít.

Kết quả là trung bình cộng của hai phép xác định.

11 Độ chum

Chi tiết thử liên phòng thử nghiệm về độ chum của phương pháp được tổng hợp trong Phụ lục A. Giá trị nhận được từ kết quả thử liên phòng thử nghiệm có thể không áp dụng với giải nồng độ và chất nền (matrix) ngoài phạm vi đã cho.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi chi tiết cần thiết cho việc nhận biết mẫu đầy đủ;
- phương pháp lấy mẫu, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có ảnh hưởng đến kết quả thử;
- kết quả thử nghiệm thu được, hoặc nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại, thì ghi kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(tham khảo)

Kết quả thử liên phòng thử nghiệm**A.1 Thử quốc tế liên phòng thử nghiệm với 51 phòng thử nghiệm ở 16 nước, tiến hành với:**

Mẫu A: Dầu đậu tương, khử mùi tẩy màu và tinh chế; và

Mẫu B: Dầu đậu tương khô đã thủy hóa và sấy khô, sử dụng phương pháp dietyl ete.

Việc thử này do liên đoàn Dầu mỡ và hiệp hội Hạt và Chất béo tổ chức (FOSFA quốc tế) tháng 6 năm 1995 và kết quả đã được xử lý phân tích thống kê theo ISO 5725¹⁾ cho độ chính xác chỉ ra trong Bảng A.1.

Bảng A.1

	Dầu đậu tương	
	A	B
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ loại lệ	49	50
Giá trị trung bình % (theo khối lượng)	0,58	0,69
Độ lệch chuẩn, S_r , %	0,025	0,027
Giới hạn lặp lại r ($2,8 S_r$), %	0,07	0,08
Hệ số biến thiên lặp lại, %	4,3	3,9
Độ lệch chuẩn tái lập S_R , %	0,22	0,24
Giới hạn tái lập R ($2,8 S_R$), %	0,62	0,67
Hệ số biến thiên tái lập, %	37,9	34,7

A.2 Thử quốc tế liên phòng thử nghiệm quốc tế khác, gồm 43 phòng thử nghiệm ở 17 nước được tiến hành năm 1989 đối với dầu cá thô của Nhật Bản.

Phép thử này do liên đoàn Dầu mỡ và hiệp hội Hạt và Chất béo tổ chức (FOSFA Quốc tế) và kết quả đã được xử lý phân tích thống kê theo ISO 5725¹⁾ cho độ chính xác nêu trong Bảng A.2

¹⁾ ISO 5725:1986 (đã hủy), đã được sử dụng để đưa ra dữ liệu về độ chụm.

Bảng A.2

	Dầu cá
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ loại lệ	37
Giá trị trung bình % (theo khối lượng)	0,81
Độ lệch chuẩn, S_r %	0,02
Giới hạn lặp lại r ($2,8 S_r$), %	0,06
Hệ số biến thiên lặp lại, %	2,46
Độ lệch chuẩn tái lập S_R , %	0,29
Giới hạn tái lập R ($2,8 S_R$), %	0,81
Hệ số biến thiên tái lập, %	35,8

A.3 Thử liên phòng quốc tế lần thứ 3 gồm 17 phòng thử nghiệm do IUPAC tổ chức từ năm 1976 đến năm 1997. Kết quả đã được xử lý phân tích thống kê theo ISO 5725 ¹⁾ cho số liệu chính xác nêu trong Bảng A.3.

Bảng A.3

	Dầu đậu tương tinh chế	Mỡ ăn được tinh chế	Dầu cải dầu thô
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ loại lệ	10	10	10
Giá trị trung bình, % (theo khối lượng)	0,630	0,253	1,432
Độ lệch chuẩn S_r %	0,032	0,024	0,068
Giới hạn lặp lại r ($2,8 S_r$), %	0,089	0,067	0,19
Hệ số biến thiên lặp lại, %	5,0	9,3	24,7
Độ lệch chuẩn tái lập S_R , %	0,140	0,154	0,137
Giới hạn tái lập R ($2,8 S_R$), %	0,397	0,435	0,389
Hệ số biến thiên tái lập, %	22,3	60,9	9,6

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 2625 : 2007 (ISO 5555 : 2001), Dầu mỡ động vật và thực vật. Lấy mẫu.
- [2] ISO 5725 : 1986, *Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for standard tests methods by inter-laboratory tests* (hiện nay đã hủy).
- [3] ISO 18609, *Animal and vegetable fats and oils – Determination of unsaponifiable matter – Method using hexane extraction*.
-