ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ И ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ

Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме

Издание официальное

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Временным творческим коллективом, образованным в рамках договора № 9842002 Е 4075 между АФНОР и ВНИЦСМВ с участием членов Технического комитета по стандартизации ТК 238 «Масла растительные и продукты их переработки»

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 238 «Масла растительные и продукты их переработки»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 639-ст

3 Настоящий стандарт гармонизирован с международным стандартом ИСО 5508—90 «Масла и жиры животные и растительные. Анализ методом газовой хроматографии метиловых эфиров жирных кислот»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Сентябрь 2005 г.

© ИПК Издательство стандартов, 2000
© Стандартинформ, 2005

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Аппаратура, материалы, реактивы 1
4 Подготовка к измерению 2
5 Проведение измерения 2
6 Обработка результатов 4
Приложение А Подготовка колонки и определение ее эффективности 6
Приложение Б Библиография 7

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ И ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ

Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме

Vegetable oils and animal fats. Determination by gaz chromatography of constituent contents of methyl esters of total fatty acid content

Дата введения 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на растительные масла и животные жиры и дает общее руководство по применению газовой хроматографии с использованием насадочной колонки или капиллярной колонки для определения качественного и количественного состава смеси жирных кислот в виде метиловых эфиров, полученных по ГОСТ Р 51486.

Данный метод не распространяется на полимеризованные жирные кислоты.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 3022—80 Водород технический. Технические условия

ГОСТ 5583—78 (ИСО 2046—73) Кислород газообразный технический и медицинский. Технические условия

ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 10157—79 Аргон газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 17433—80 Промышленная чистота. Сжатый воздух. Классы загрязненности

ГОСТ 25828—83 Гептан нормальный эталонный. Технические условия

ГОСТ Р 51486—99 Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот

3 Аппаратура, материалы, реактивы

Хроматограф газовый лабораторный, включающий следующие элементы:

Инжектор:

а) для насадочных колонок, имеющий наименьший мертвый объем и возможность нагрева инжектора на 20—50 °С выше температуры термостата колонок;

б) для капиллярных колонок с делителем потока или вводом пробы непосредственно в колонку.

Допускается применение инжектора с движущейся иглой для анализа жирных кислот с числом атомов углерода более 16.

Термостат с программированием температуры, обеспечивающий нагрев колонки до температуры не менее 260 °С, поддерживающий температуру с точностью 1 °С с насадочной колонкой, с точностью 0,1 °С с капиллярной колонкой (особенно из плавленого кварца).

Колонка газохроматографическая насадочная из нержавеющей стали или стекла длиной от 1 до 3 м, внутренним диаметром 2—4 мм.

Колонка капиллярная из стекла или плавленого кварца длиной от 25 м, внутренним диаметром от 0,2 до 0,8 мм.

Детектор пламенно-ионизационный, обеспечивающий нагрев до температуры выше температуры колонки.

Микрошприц МШ-10 вместимостью 10 мм^3 и МШ-1 или Газхром 101 вместимостью 1 мм^3.

Записывающее устройство со следующими характеристиками:

быстрота срабатывания менее 1,5 с;

Издание официальное

ширина бумаги — не менее 20 см;
скорость движения бумаги — от 0,4 до 2,5 см/мин.
Интегратор или калькулятор, обеспечивающий соответствующую линейную чувствительность.
Гептан для хроматографии по ГОСТ 25828.
Гексан для хроматографии [1].
Газы-носители:
азот газообразный по ГОСТ 9293, ос. ч.;
гелий сжатый, тщательно просушенный, с содержанием кислорода менее 10 мг/кг;
аргон газообразный по ГОСТ 3022, в. с.
Вспомогательные газы:
водород технический по ГОСТ 3022, марки А.
или водород электролизный от генератора типа СГС-2, САМ-1.
Воздух по ГОСТ 17433 класса 0.
Кислород по ГОСТ 5583 1-го сорта.

Допускается применение другой аппаратуры и реактивов, по качеству и техническим характеристикам не уступающих перечисленным выше.

4 Подготовка к измерению

4.1 Приготовление стандартной смеси

В качестве стандартной смеси используют смесь метиловых эфиров чистых жирных кислот, в том числе промышленно изготовленные смеси или смесь метиловых эфиров жирных кислот жира известного состава, близкого к исследуемым жировым веществам (например масло какао или подсолнечное масло).

4.2 Выбор и подготовка аналитической колонки

Для определения жирных кислот с числом атомов углерода более 20, используют относительно короткую насадочную колонку, для жирных кислот с числом атомов углерода 4 и 6 используют насадочную колонку длиной 2 м.

Если присутствуют полиненасыщенные кислоты с более чем тремя двойными связями, не рекомендуется использовать колонки из нержавеющей стали без необходимой проверки, так как эти соединения могут разрушаться в таких колонках.

Подготовка колонки — по приложению А.

5 Проведение измерения

Включение и работа с хроматографом в соответствии с руководством по эксплуатации прибора.

5.1 Выбор оптимального эксплуатационного режима

5.1.1 При выборе условий измерений с насадочной колонкой учитывают следующие переменные величины:

- длину и внутренний диаметр колонки;
- природу и количество неподвижной фазы;
- температуру колонки;
- поток газа-носителя;
- требуемую разрешающую способность;
- размер испытуемой пробы, взятой так, чтобы получить линейную характеристику;
- продолжительность анализа.

В таблицах 1 и 2 приведены скорости потока газа-носителя в зависимости от внутреннего диаметра насадочной колонки и температуры колонки в зависимости от концентрации неподвижной фазы % (по массе).

Таблица 1

Внутренний диаметр колонки, мм	Скорость потока газа-носителя, $см^3$/мин
2	От 15 до 25
3	От 20 до 40
4	От 40 до 60

Таблица 2

Концентрация неподвижной фазы, % (по массе)	Температура насадочной колонки, °С	Концентрация неподвижной фазы, % (по массе)	Температура насадочной колонки, °С
5	175	15	185
10	180	20	185

Выбор условий, приведенных по данным таблиц 1 и 2, позволяет получить около 2000 теоретических тарелок на 1 м длины колонки для метилстеарата и время его выхода около 15 мин.

Для масел и жиров, содержащих жирные кислоты с числом атомов углерода менее 14, используют программирование температуры термостата колонок от 50—60 °С до оптимальной со скоростью от 4 до 8 град/мин.

Хроматографирование продолжают при постоянной температуре до полного элюирования всех компонентов.

При отсутствии в приборе программированного нагрева хроматографирование проводят при двух температурах: 100 и 185 °С.

Кроме того, на хроматографе устанавливают следующие параметры для проведения измерения (если позволяют характеристики прибора):

температура инжектора — 200—230 °С;

температура детектора равна или выше температуры колонки;

отношение объемной скорости потока водорода, подаваемого в пламенно-ионизационный детектор, к скорости потока газа-носителя составляет от 1:2 до 1:1 в зависимости от диаметра колонки;

поток воздуха или кислорода в 5—10 раз больше потока водорода.

5.1.2 В капиллярных колонках разделение компонентов и продолжительность анализа зависят от объемной скорости потока газа-носителя в колонке. Выбор скорости зависит от того, что хотят получить — хорошее разделение или сократить время испытания.

5.2 Проба для проведения измерения

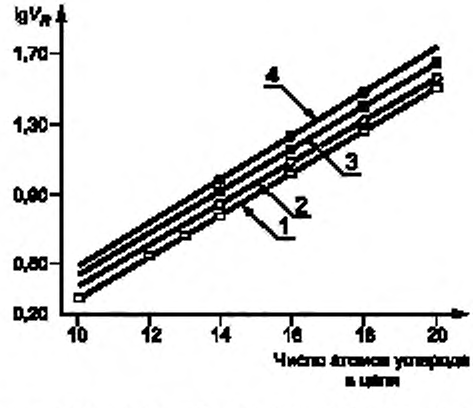
Отбирают микрошприцем от 0,1 до 2 мм^3 раствора метиловых эфиров жирных кислот, приготовленных из испытуемой пробы по ГОСТ Р 51486—99 и вводят в колонку.

Если эфиры не в растворе, то готовят раствор концентрации 100 мг/см^3 в гептане (или гексане) и вводят в колонку от 0,1 до 1 мм^3 этого раствора.

При определении компонентов, присутствующих в малых количествах, концентрацию вводимой пробы увеличивают в 10 раз.

5.3 Получение хроматограммы стандартной смеси и построение графиков

Проводят измерение стандартной смеси (4.1) в изотермических условиях, идентичных проведению измерения метиловых эфиров жирных кислот испытуемой пробы. Измеряют объемы удерживания метиловых эфиров жирных кислот. Строят графики логарифмической зависимости объема удерживания от числа атомов углерода в цепи для метиловых эфиров жирных кислот любой степени ненасыщенности.



1 — насыщенные; *2* — мононенасыщенные; *3* — диненасыщенные; *4* — триненасыщенные кислоты

Рисунок 1 — Зависимость логарифма объема удерживания на полиэфирной стационарной фазе от числа атомов углерода в цепи для метиловых эфиров жирных кислот

Графики для кислот с прямой цепью одинаковой степени ненасыщенности будут в виде прямых, приблизительно параллельных линий (см. рисунок 1).

Необходимо исключить условия, недостаточные для разделения двух компонентов, — «скрытые пики». Если, например, в испытуемой пробе одновременно присутствуют жирные кислоты $C_{18:3}$ и $C_{20:0}$ или $C_{18:3}$ и $C_{18:2}$ с сопряженными связями, то проводят измерение на двух неподвижных фазах с различными полярностями, чтобы убедиться в отсутствии скрытых пиков.

Для капиллярных колонок идентификацию проводят сравнением со стандартной смесью, содержащей, в том числе, изомеры ненасыщенных кислот.

6 Обработка результатов

6.1 Качественный анализ

Идентифицируют пики метиловых эфиров жирных кислот испытуемой пробы по графикам, подготовленным по 5.4, и, если необходимо, путем интерполяции.

6.2 Количественный анализ

6.2.1 Используют метод внутренней нормализации, т. е. предполагают, что общая площадь пиков всех компонентов испытуемой пробы составляет 100 %.

Если прибор не снабжен интегратором, то площадь каждого пика определяют расчетным путем, умножая высоту пика на его ширину, измеренную на половине высоты, с учетом различных переключений во время записи. При работе с капиллярными колонками использование интегратора обязательно.

6.2.2 Метод расчета

6.2.2.1 Массовую долю метилового эфира каждой жирной кислоты X_i, %, вычисляют по формуле

$$X_i = \frac{A_i}{\Sigma A_i} \cdot 100 , \qquad (1)$$

где A_i — площадь пика метилового эфира каждой жирной кислоты (i), мм^2;

ΣA_i — сумма площадей всех пиков метиловых эфиров жирных кислот, мм^2.

Вычисление проводят с точностью до второго десятичного знака, с последующим округлением до первого десятичного знака.

6.2.2.2 Расчет с поправочным коэффициентом

Для особо точных измерений для определения массовой доли метиловых эфиров жирных кислот с числом атомов углерода менее 8 или в присутствии метиловых эфиров жирных кислот со вторичными группами вводят поправочные коэффициенты. Поправочные коэффициенты рассчитывают на основании результатов измерений стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот известного состава, проведенных в условиях, идентичных условиям измерений анализируемой пробы.

Массовую долю метилового эфира каждой жирной кислоты в стандартной смеси X_{ri}, %, вычисляют по формуле

$$X_{ri} = \frac{m_{ri}}{\Sigma m_{ri}} \cdot 100 , \qquad (2)$$

где m_{ri} — масса метилового эфира каждой жирной кислоты (i) в стандартной смеси, мг;

m_{ri} — сумма масс метиловых эфиров жирных кислот стандартной смеси, мг.

По хроматограмме стандартной смеси (5.3) и по формуле (1) вычисляют полученную массовую долю метилового эфира каждой жирной кислоты (i) в стандартной смеси в процентах.

Затем вычисляют поправочный коэффициент K_i для метилового эфира жирной кислоты (i), в стандартной смеси по формуле

$$K_i = \frac{m_{ri} \Sigma A_{ri}}{A_{ri} \Sigma m_{ri}} , \qquad (3)$$

где A_{ri} — площадь пика метилового эфира каждой жирной кислоты (i) в стандартной смеси, мм^2;

ΣA_{ri} — сумма площадей всех пиков метиловых эфиров жирных кислот стандартной смеси, мм^2.

Относительные поправочные коэффициенты K_i' (например по отношению к метиловому эфиру пальмитиновой кислоты $K_{C_{16}}$) вычисляют по формуле

$$K'_i = \frac{K_i}{K_{C_{18}}}. \quad (4)$$

Для испытуемой пробы вычисляют массовую долю метилового эфира каждой жирной кислоты X_i', %, с учетом относительного поправочного коэффициента по формуле

$$X'_i = \frac{K'_i A_i}{\Sigma(K_i A_i)} \cdot 100. \quad (5)$$

Вычисления проводят с точностью до второго десятичного знака, с последующим округлением до первого десятичного знака.

6.2.2.3 Расчет при работе с внутренним стандартом

При необходимости работы с внутренним стандартом массовую долю метилового эфира каждой жирной кислоты X_i, %, определяют по формуле

$$X_i = \frac{m_s K'_i A_i}{m K_s A_s} \quad 100, \quad (6)$$

где A_i — площадь пика метилового эфира жирной кислоты (i), мм^2;

A_s — площадь пика внутреннего стандарта, мм^2;

K_i' — относительный поправочный коэффициент метилового эфира жирной кислоты (i) (по отношению к $K_{C_{18}}$);

K_s' — относительный поправочный коэффициент для внутреннего стандарта (по отношению к $K_{C_{18}}$);

m — масса пробы, взятая для измерения, мг;

m_s — масса внутреннего стандарта, мг.

Вычисление проводят с точностью до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

6.3 Повторяемость

Расхождение между результатами двух независимых единичных определений, выполненных при использовании одного метода, на идентичном испытуемом материале, в одной лаборатории, одним аналитиком, на одном оборудовании, за короткий промежуток времени не должно превышать при доверительной вероятности 0,95, %;

0,2 (абсолютное значение) при содержании искомых веществ менее 5 %;

1 (абсолютное значение) и 3 по отношению к среднему значению двух результатов при содержании искомых веществ равном или более 5 %.

6.4 Воспроизводимость

Расхождение между результатами двух единичных определений, выполненных одним методом, на идентичном испытуемом материале, в разных лабораториях, разными аналитиками, на различном оборудовании, не должно превышать при доверительной вероятности 0,95, %:

0,5 (абсолютное значение) при содержании искомых веществ менее 5 %;

3 (абсолютное значение) и 10 по отношению к среднему значению двух результатов при содержании искомых веществ, равном или более 5 %.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Подготовка колонки и определение ее эффективности

А.1 Подготовка колонки при первоначальной организации работы на приборе

А.1.1 Заполнение колонки

А.1.1.1 Насадочную колонку заполняют насадкой, состоящей из носителя и неподвижной фазы. Неподвижная фаза составляет от 5 до 20 % массы насадки.

носитель: диатомитовая земля, промытая кислотой и силанизированная или другой инертный носитель с узким диапазоном величины частиц (в диапазоне от 125 мкм до 200 мкм с интервалом 25 мкм). Величина частиц носителя должна соответствовать внутреннему диаметру и длине колонки;

неподвижная фаза: полярная жидкость полиэфирного типа (полидиэтиленгликольсукцинат, полибутандиолсукцинат, полиэтиленгликольдипинат и др.), цианосиликоны или какая-либо другая жидкость, обеспечивающая требуемое хроматографическое разделение.

А.1.1.2 Внутреннюю поверхность капиллярной колонки перед нанесением покрытия неподвижной фазой обрабатывают для инактивации. Толщина покрытия — от 0,1 до 0,2 мкм.

Неподвижная фаза типа полигликоля (полиэтиленгликоль 20000), полиэфира (полибутандиолсукцинат) или полярные полисилоксаны (цианосиликоны).

А.1.2 Кондиционирование колонки

А.1.2.1 Насадочную колонку отсоединяют от детектора. Термостат нагревают до 185 °С и пропускают ток инертного газа через свежеприготовленную колонку со скоростью от 20 мл/мин до 60 мл/мин в течение 16 ч и 2 ч при температуре 195 °С.

А.1.2.2 Капиллярную колонку осторожно устанавливают в термостате. При сборке выполняют следующие условия:

- колонку устанавливают в термостате (с опорой);
- все соединения должны быть герметичны;
- концы колонки соединяют с инжектором и детектором с учетом сокращения мертвого объема до минимума. Через колонку пропускают поток газа-носителя.

Кондиционирование капиллярной колонки проводят в режиме программирования температуры термостата со скоростью 3 °С/мин от температуры окружающего воздуха до температуры на 10 °С ниже температурного предела расщепления неподвижной фазы.

Колонку выдерживают при этой температуре в течение 1 ч до стабилизации нулевой линии. Затем температуру термостата доводят до 180 °С для работы в изотермических условиях.

Примечание — В промышленности выпускаются соответствующие предварительно кондиционированные капиллярные колонки.

А.1.3 Определение количества теоретических тарелок (эффективности) и разрешающей способности (см. рисунок А.1)

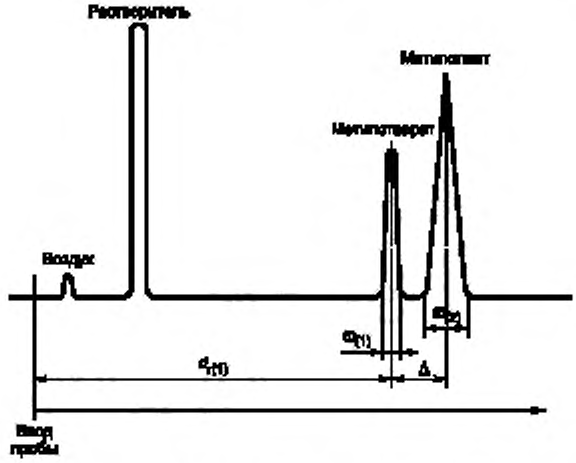


Рисунок А.1 — Хроматограмма для определения количества теоретических тарелок колонки (эффективности) и разрешающей способности

Проводят анализ смеси метилстеарата и метилолеата в метиловых эфирах жирных кислот масла известного состава (подсолнечного масла или масла-какао).

Условия проведения измерения подбирают так, чтобы максимум пика метилстеарата был зарегистрирован через 15 мин после пика растворителя. Пик метилолеата должен занимать $^3/_4$ всей шкалы, количество теоретических тарелок должно быть не менее 2000 на метр длины колонки для метилстеарата, разрешающая способность не менее 1,25.

Количество теоретических тарелок n, вычисляют по формуле

$$n = 16\left(\frac{d_{r(1)}}{\omega_{(1)}}\right)^2, \qquad (A.1)$$

где $d_{r(1)}$ — расстояние удерживания от начала хроматограммы до максимума пика метилстеарата, в мм;

$\omega_{(1)}$ — ширина пика метилстеарата, измеренная между точками пересечения касательных в точках изгиба кривой с нулевой линией, мм.

Разрешающую способность R вычисляют по формуле

$$R = \frac{2\Delta}{\omega_{(1)} + \omega_{(2)}}, \qquad (A.2)$$

где $\omega_{(2)}$ — ширина пика метилолеата, измеренная между точками пересечения касательных в точках изгиба кривой с нулевой линией, мм;

Δ — расстояние между максимумами пиков метилстеарата и метилолеата.

А.1.4 Периодичность подготовки колонки

В дальнейшем подготовку и кондиционирование колонки проводят при снижении разделительной способности колонки или замене неподвижной фазы.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(справочное)

Библиография

[1] ТУ 6-09-3375—78 Гексан

УДК 664.34.001.4:006.354 ОКС 67.200.10 Н69 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: масла растительные, жиры животные, газохроматографический анализ, метиловые эфиры жирных кислот, состав жирных кислот, газ-носитель, неподвижная фаза

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Л.А. Гусева*
Корректор *А.С. Черноусова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Подписано в печать 29.09.2005. Формат 60x84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл.печ.л. 1,40. Уч.-изд.л. 0,90. Тираж 64 экз. Зак. 746. С 1964.

ФГУП «Стандартинформ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru
Набрано в ИПК Издательство стандартов на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «Стандартинформ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru