

WYROBY PRZEMYSŁU CHEMICZNEGO	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-89
	Tłuszcze techniczne	6130-03
	Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej	Zamiast BN-76/6130-03
		Grupa katalogowa 1210

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest metoda oznaczania składu kwasów tłuszczowych w postaci estrów metylowych metodą chromatografii gazowej.

1.2. Zakres stosowania normy. Normę stosuje się do oznaczania składu kwasów tłuszczowych w tłuszczach technicznych zwierzęcych i roślinnych oraz kwasów naturalnych i syntetycznych.

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada metody. Oznaczanie polega na rozdziale kwasów tłuszczowych po przeprowadzeniu w estry metylowe, metodą chromatografii gazowej, identyfikacji rozdzielonych składników i wyliczeniu ich procentowej zawartości.

2.2. Aparatura i przyrządy

2.2.1. Aparatura do analizy chromatograficznej

a) Chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym, wyposażony w kolumny szklane lub metalowe (z aluminium lub stali nierdzewnej) długości 1 ÷ 2 m i średnicy wewnętrznej 2 ÷ 4 mm.

b) Zawory redukcyjne precyzyjne z manometrami dla argonu (azotu lub helu), wodoru i powietrza.

c) Mikrostrzykawki pojemności 1,0 ÷ 10,0 µl.

d) Integrator.

W przypadku braku integratora, procentową zawartość kwasów tłuszczowych oblicza się wg 2.8.

2.2.2. Zestaw do estryfikacji

a) Ampułki szklane z długą szyjką pojemności 5 ml.

b) Pipety wielomiarowe pojemności 2 ml.

c) Pipety wielomiarowe pojemności 5 ml.

d) Łażnia wodna.

2.3. Odczynniki i roztwory

a) Alkohol metylowy cz.d.a., bezwodny.

b) Azot sprężony z butli o czystości nie mniej niż 99,9%(V/V) lub azot sprężony wg PN-71/C-84912, lub Hel sprężony lub Argon sprężony.

c) Eter etylowy cz.d.a.

d) Trójfluorek borowy cz., roztwór 14%(m/m) w alkoholu metylowym (produkt handlowy).

e) Chlorek sodowy cz., roztwór nasycony.

f) Powietrze sprężone wg PN-74/C-84913.

g) Wodór sprężony wg PN-61/C-84908.

h) Wodorotlenek potasowy cz.d.a., o stężeniu $c(\text{KOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$ w alkoholu metylowym.

i) Wzorce estrów metylowych kwasów tłuszczowych w zależności od rodzaju analizowanego surowca, np.:
 ester metylowy kwasu laurynowego,
 ester metylowy kwasu polmitynowego,
 ester metylowy kwasu stearynowego,
 ester metylowy kwasu oleinowego,
 ester metylowy kwasu linolowego,
 ester metylowy kwasu arachidowego.

j) Wypełnienie kolumn chromatograficznych:
 10% SP — 2300 na Supelcoport 80/100 mesh firmy Supelco lub 10% SP — 2330 na Chromosorb 100/120 mesh firmy Supelco lub 5 ÷ 10% DEGS — PS na Supelcoport 80/100 mesh firmy Supelco lub 10% Silar 5 CP na Gas Chrom Q II 80/100 mesh firmy Alltech lub inne wypełnienie odpowiednie do rozdziału estrów metylowych kwasów tłuszczowych. W przypadku braku handlowego wypełnienia, należy je wykonać wg rozdz. 3.

2.4. Napełnianie kolumn chromatograficznych. Zależnie od objętości kolumny, odważyć wymaganą ilość wypełnienia, a następnie jeden koniec kolumny zatkać tamponem z waty szklanej i podłączyć do pompki wodnej, a przez drugi koniec wsypywać małymi porcjami wypełnienie. Podczas napełniania, ubijać wypełnienie za pomocą wibratora mechanicznego lub przez lekkie uderzanie prętem drewnianym. Po całkowitym napełnieniu kolumny, odłączyć pompkę i zatkać drugi koniec watą szklaną, a kolumnę podłączyć do aparatu. Kolumnę wygrzać w termostacie chromatografu po odłączeniu od detektora w temperaturze 200°C w przepływie gazu nośnego w ciągu 72 h.

2.5. Pobieranie próbek i przygotowanie średniej próbki laboratoryjnej wykonać wg PN-87/C-04288/02 i PN-87/C-04288/03.

2.6. Przygotowanie estrów metylowych

2.6.1. Wykonanie przeestryfikowania próbki tłuszczu. Do ampułki pojemności 5 ml wprowadzić za pomocą

Zgłoszona przez Instytut Chemii Przemysłowej
 Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Chemii Przemysłowej dnia 20 lipca 1989 r.
 jako norma obowiązująca od dnia 1 czerwca 1990 r.
 (Dz. Norm. i Miar nr 4/1990, poz. 8)

szklanej kapilary około 50 mg tłuszczu tak, aby nie zwilżyć szyjki. Następnie pipetą wprowadzić 1 ml roztworu wodorotlenku potasu wg 2.3h) i zmydlać na wrzącej łaźni wodnej w ciągu 3 ÷ 5 min. Po zmydleniu próbki dodać 2 ml roztworu trójfluorku borowego wg 2.3d), ogrzewać na łaźni wodnej w temperaturze około 80°C w ciągu 2 ÷ 3 min.

Następnie dodać roztwór chlorku sodowego wg 2.3e) w takiej ilości, aby warstwa estrów metylowych znalazła się w szyjce ampułki. Następnie dodać około 0,5 ml eteru etylowego wg 2.3c). Do analizy pobrać próbkę za pomocą mikrostrzykawki z warstwy eterowej.

2.6.2. Wykonanie estryfikacji próbki kwasów tłuszczowych. Do ampułki pojemności 5 ml wprowadzić za pomocą szklanej kapilary około 20 mg kwasów tłuszczowych i za pomocą pipety dodać 2 ml roztworu trójfluorku borowego wg 2.3d) i ogrzać na łaźni wodnej w temperaturze 80°C w ciągu 2 ÷ 3 min.

Zawartość ampułki uzupełnić roztworem chlorku sodowego wg 2.3e) do poziomu szyjki, a następnie dodać 0,5 ml eteru etylowego wg 2.3c). Do analizy pobrać próbkę za pomocą mikrostrzykawki z warstwy eterowej.

2.7. Wykonanie oznaczania. Przed wykonaniem oznaczania, ustawić optymalne parametry pracy chromatografu w zależności od ilości atomów węgla w łańcuchu rozdzielanych kwasów:

— warunki liniowego programowania temperatury 80 ÷ 200°C lub 150 ÷ 250°C z szybkością programowania 5 ÷ 10°/min,

— temperatura detektora 250 ÷ 300°C,

— temperatura odparownika 150 ÷ 200°C,

— szybkość przepływu gazu nośnego 40 ÷ 60 ml/min,

— szybkość przepływu wodoru i powietrza zgodnie z instrukcją obsługi chromatografu,

— wielkość próbki 0,5 ÷ 2,0 µl.

Po ustaleniu wymaganych warunków, wprowadzić badaną próbkę za pomocą mikrostrzykawki na kolumnę chromatograficzną. Na otrzymanym chromatogramie piki powinny być symetryczne, dobrze rozdzielone, a wysokość najwyższych powinna wynosić powyżej 50% skali rejestratora.

W przypadku uzyskania zbyt małych pików, należy zwiększyć czułość lub wprowadzić większą próbkę.

Natomiast przy źle rozdzielonych pikach należy obniżyć temperaturę termostatu lub zmienić przepływ gazu nośnego lub zmienić wypełnienie kolumn.

2.8. Obliczanie wyników

2.8.1. Interpretacja jakościowa chromatogramu. Interpretację jakościową przeprowadzić przy użyciu wzorców wg 2.3i) przez porównanie czasów retencji składników mieszaniny wzorcowej i poszczególnych składników badanej próbki na chromatogramach wykonanych w takich samych warunkach.

2.8.2. Interpretacja jakościowa chromatogramu. Interpretację jakościową chromatogramu wykonać za pomocą integratora lub wyliczając powierzchnię piku dla każdego składnika z iloczynu wysokości piku i szerokości w połowie wysokości lub za pomocą planimetru.

Udział procentowy dowolnego składnika (X) w procentach masowych obliczyć ze wzoru

$$X = \frac{P}{\Sigma P} \cdot 100$$

w którym:

P — powierzchnia piku dowolnego składnika, cm^2 ,
 ΣP — suma powierzchni pików wszystkich składników na chromatogramie, cm^2 .

Wyniki należy interpretować wg PN-70/N-02120 metoda Z. Przy podawaniu wyników należy określać warunki wynikające z 2.7, w jakich była wykonywana analiza.

2.8.3. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik końcowy oznaczania należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń, dla których względna maksymalna różnica w procentach wartości oznaczanej nie przekroczy wartości podanych w tabl. 1.

Tablica 1

Udział składnika %	Dopuszczalny rozstęp dwóch wyników równoległych w % wartości oznaczanej
	$\frac{x_1 - x_2}{\bar{x}} \cdot 100$
poniżej 1	35
1 ÷ 10	25
10 ÷ 40	10
powyżej 40	5

3. WYKONANIE WYPEŁNIENIA KOLUMNY

3.1. Aparatura

a) Kolba okrągłodenna ze szlifem pojemności 750 ml.

b) Nasadka z dwoma tubusami.

c) Łaźnia wodna.

d) Suszarka próżniowa.

3.2. Odczynniki

a) Azot wg 2.2a).

b) Chloroform cz.d.a.

c) Fazy ciekłe takie jak:

SP — 2300,

SP — 2330,

DEGS — PS,

Silar 5 CP.

d) Nośniki takie jak:

Gas Chrom Q,

Chromosorb WAW,

Diatomite CAW

lub inne o uziarnieniu 80 ÷ 100 mesh.

3.3. Sporządzenie wypełnienia. Do kolby okrągłodennej wg 3.1a) odważyć nośnik wg 3.2d) wysuszony w temperaturze 110°C w ilości potrzebnej do napełnienia kolumn.

Następnie odważyć w zlewce pojemności 250 ml fazę ciekłą wg 3.2c. Ilość fazy obliczyć zależnie od procentowego stężenia na nośniku. Dodać 100 ml chloroformu wg 3.2b. Po rozpuszczeniu fazy ciekłej, przelać roztwór do kolby z nośnikiem. Zawartość kolby bardzo dobrze wymieszać, zamknąć kolbę nasadką z dwoma

tubusami wg 3.1b) i podłączyć do pompy wodnej i butli z azotem wg 3.2a. Kolbę umieścić w łaźni wodnej i powoli oddestylowywać rozpuszczalnik (do tej czynności zaleca się stosowanie wyparki obrotowej). Następnie wypełnienie suszyć i wstępnie kondycjonować

w przepływie azotu w temperaturze 180°C w ciągu około 12 h.

Stosowane ilości fazy ciekłej wynoszą najczęściej 5 ÷ 20%(m/m) w stosunku do nośnika.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Instytut Chemii Przemysłowej, Warszawa.

2. Istotne zmiany w stosunku do BN-76/6130-03

a) usunięto p. 1.3 „Określenia”, które są zawarte w PN-74/T-06507/00,

b) wprowadzono nowe rodzaje wypełnień i faz ciekłych.

3. Normy związane

PN-87/C-04288/02 Tłuszcze techniczne. Metody badań. Pobieranie próbek i przygotowanie średniej próbki laboratoryjnej

PN-87/C-04288/03 Tłuszcze techniczne. Metody badań. Przygotowanie próbek do analizy

PN-61/C-84908 Wodór techniczny sprężony

PN-71/C-84912 Azot sprężony techniczny

PN-74/C-84913 Powietrze sprężone

PN-70/N-02120 Zasady zaokrąglania i zapisywania liczb

4. Normy zagraniczne

BS 684: Section 2.34:1980 Fats and fatty oils. Preparation of methyl esters of fatty acids

BS 684: Section 2.35:1980 Fats and fatty oils. Analysis by gasliquid chromatography of methyl esters of fatty acids

USA ASTM D 1983-69 Fatty acid composition by Gas Liquid Chromatography of methyl esters

5. Autorzy projektu normy — mgr Iwona Bąk, mgr Hanna Turlewicz, Instytut Chemii Przemysłowej, Warszawa.