UKD 664.33;665.35

WYROBY PRZEMYSŁU OLEJARSKIEGO	NORMA BRANŻOWA Tłuszcze roślinne jadalne Metody badań **Oznaczanie zawartości tłuszczu neutralnego metodą chromatografii kolumnowej w tłuszczach surowych**	**BN-76** **8050-25** Grupa katalogowa XII 69

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest oznaczanie zawartości tłuszczu neutralnego w tłuszczach surowych.

1.2. Określenia. Przez określenie tłuszcz neutralny należy rozumieć trójglicerydy i substancje niezmydlające się, oznaczone niniejszą metodą.

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada metody polega na wagowym określaniu łącznej zawartości trójglicerydów i substancji niezmydlających się w badanej próbce tłuszczu, pozbawionej uprzednio substancji lotnych /w tym również wody/.

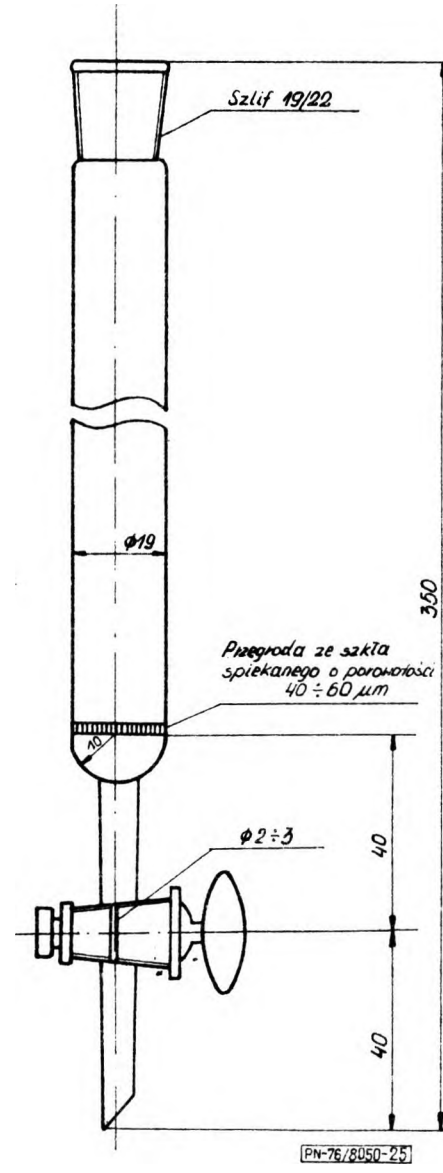
Suchą próbkę w postaci roztworu w rozpuszczalniku eterowym podaje się na kolumnę chromatograficzną wypełnioną aktywnym tlenkiem glinu. Wolne kwasy tłuszczowe, fosfolipidy i inne substancje towarzyszące, nie będące trójglicerydami i substancjami niezmydlającymi się, zatrzymywane są na adsorbencie w trakcie przechodzenia próbki przez kolumnę i eluowania tej próbki rozpuszczalnikiem.

2.2. Aparatura i przyrządy

a/ Kolumna chromatograficzna szklana - wg rysunku o długości 300 ÷ 350 mm i średnicy wewnętrznej 18 ÷ 20 mm zaopatrzona w dolnej części cylindrycznej w przegrodę ze szkła spiekanego o średnicy por 40 ÷ 60 μm oraz w jednodrożny kran o prześwicie 2÷3 mm. Górna część kolumny powinna być zakończona szlifem wewnętrznym 19/22 do połączenia ze zbiornikiem rozpuszczalnika eterowego. Długość przewężonej części kolumny poniżej przegrody ze szkła spiekanego powinna wynosić 10 mm; długość rurki ponad kranem - 20 mm, natomiast pod kranem 30 ÷ 40 mm.

b/ Zbiornik rozpuszczalnika eterowego o pojemności około 175 cm^3 w postaci rozdzielacza cylindrycznego lub gruszkowego, zaopatrzony w szlif zewnętrzny dostosowany wymiarami do szlifu na wierzchołku kolumny. W przypadku braku rozdzielacza ze szlifem można stosować rozdzielacze zwykłe i odpowiednie połączenie za pomocą zwykłych korków.

c/ Kolba stożkowa z zamknięciem szlifowym o pojemności 100 cm^3.



Zgłoszona przez Zjednoczenie Przemysłu Olejarskiego
Ustanowiona przez Naczelnego Dyrektora Zjednoczenia Przemysłu Olejarskiego dnia 17 grudnia 1976 r.
jako norma obowiązująca w zakresie czynności określonych normą od dnia 1 kwietnia 1977 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 3/1977 poz. 8)

WYDAWNICTWA NORMALIZACYJNE 1977. Wpływ do WN 18.12.76. Oddano do składu 2.1.77. Druk ukończono w lutym 77. Cena zł 2,40
Obj. 0,40 a. w. Nakład 3000+55 egz. Zam. 50/77

d/ Zlewka o pojemności 100 cm^3.

e/ Lejek polietylenowy lub szklany o średnicy około 60 mm.

f/ Lejek szklany o średnicy około 30 mm z nóżką o średnicy około 10 mm i długości około 150 mm.

g/ Lejek szklany o średnicy około 70 mm z nóżką długości około 100 mm.

h/ Pręcik szklany długości około 170 mm.

i/ Kolba Soxhleta o pojemności 250 cm^3 lub inna kolba ze szlifem np. 29/32 jako odbieralnik eluatu. Konieczne jest, aby kolba miała szlif odpowiedni do podłączenia do odparowywacza rotacyjnego lub zestawu do oddestylowywania rozpuszczalnika.

j/ Cylindry pomiarowe szklane o pojemności 50 i 500 cm^3.

k/ Pipeta chemiczna o pojemności 25 cm^3.

l/ Tryskawka, najlepiej z polietylenu o pojemności 250 cm^3.

m/ Butla o pojemności 250 cm^3 z ciemnego szkła, zamykana korkiem zwykłym z osłonką celofanową.

n/ Odparowywacz rotacyjny lub inny zestaw do oddestylowywania rozpuszczalnika w przepływie azotu lub gazu obojętnego.

2. 3. Odczynniki i inne materiały

a/ Rozpuszczalnik eterowy: eter etylowy - metanol przygotowany przez zmieszanie 25 cm^3 metanolu cz. d. a. /odmierzonego pipetą/ i 975 cm^3 eteru dwuetylowego cz. d. a. bezwodnego. W przypadku trudności w uzyskaniu eteru etylowego cz. d. a. bezwodnego, dopuszcza się stosowanie eteru etylowego bezwodnego do narkozy, odpowiadającego wymogom określonym w Farmakopei Polskiej, IV wyd.

b/ Tlenek glinu o stopniu aktywności I wg Brockmana, obojętny, o granulacji takiej, że 100% przechodzi przez sita o wymiarach oczek 0, 147 mm /100 mesh USA lub 40 DIN wg numeracji niemieckiej/, zaś 70 ÷ 90% zatrzymuje się na sicie, którego wymiar oczek wynosi 0, 074 mm /200 mesh lub 80 DIN/.

Zawartość wody oznaczona przez prażenie 1 g tlenku glinu w temperaturze 600°C przez okres 2 h, umieszczonego najlepiej w platynowym, porcelanowym lub kwarcowym tyglu z pokrywką, powinna wynosić 11 ±1%.

Jeżeli granulacja tlenku glinu nie odpowiada wymaganiom normy, należy go przesiać przez odpowiednie sita i odebrać wymagane frakcje. Zawartość wody należy oznaczyć w tlenku glinu o właściwej granulacji.

c/ Smar beztłuszczowy do kranów przygotowany w sposób następujący: 14 g gliceryny cz. d. a. zmieszać z 9 g skrobi cz. i ogrzewać przy stałym mieszaniu przez 30 min w temperaturze 140°C.

d/ Krążki z twardej bibuły do sączenia o średnicy równej średnicy wewnętrznej kolumny chromatograficznej.

2. 4. Przygotowanie próbki do analizy. Badaną próbkę pobraną zgodnie z PN-76/A-86910 i przygotowaną wg PN-76/A-86911 należy podgrzać na łaźni wodnej do temperatury nie niższej niż 50°C /około 70°C w przypadku oleju rzepakowego/, a następnie naczynie, w którym znajduje się próbka, energicznie wytrząsać tak, aby została ona starannie wymieszana, a osady równomiernie w niej rozprowadzone.

Próbki olejów uwodornionych i tłuszczów stałych przed wymieszaniem podgrzać do temperatury o 20°C powyżej ich temperatury całkowitego sklarowania.

Należy skontrolować, czy na ściankach i dnie naczynia nie występuje osad. W przypadku obecności osadu należy go starannie rozprowadzić w całej masie tłuszczu.

2. 5. Suszenie próbki. Analiza tłuszczu neutralnego powinna być wykonywana na suchej próbce oleju surowego. Suszenie przeprowadza się zgodnie z PN-73/A-86912, p. 2. 3. Pozostałość próbki tłuszczu po oznaczeniu w niej wody i substancji lotnych służy do oznaczania tłuszczu neutralnego. Dlatego też zaleca się suszyć próbkę w temperaturze 65 ÷ 70°C pod ciśnieniem 70 mm słupa Hg w naczyniu z dnem płaskim o średnicy 70 mm z dzióbkiem /typ krystalizatora/.

2. 6. Przygotowanie kolumny z tlenkiem glinu. Odważyć w kolbie stożkowej o pojemności 100 cm^3 z zamknięciem szlifowym 20 g tlenku glinu z dokładnością ±1 g, dodać 50 cm^3 rozpuszczalnika eterowego i po energicznym wymieszaniu przenieść do kolumny za pomocą lejka. Opukać lekko kolumnę pręcikiem szklanym z nałożoną gumką, w celu prawidłowego wypełnienia kolumny tlenkiem glinu i wyeliminowania pęcherzyków powietrza. Odpuścić częściowo rozpuszczalnik z kolumny i następnie opłukać kolbę, lejek i kolumnę około 25 cm^3 rozpuszczalnika eterowego. Nałożyć na górną warstwę tlenku krążek z bibuły. Odprowadzić nadmiar rozpuszczalnika tak, aby nad warstwą tlenku pozostał jeszcze słupek rozpuszczalnika o wysokości około 10 mm. Rozpuszczalnik odbierać do cylindra pomiarowego, w celu pomiaru szybkości jego wypływu z kolumny. Szybkość wypływu powinna wynosić 4 ÷ 6 cm^3/min.

2. 7. Wykonanie oznaczania. Pozostałość oleju w krystalizatorze po wykonaniu oznaczania wg 2. 5 rozpuścić dokładnie przy użyciu pręcika szklanego w 10 cm^3 rozpuszczalnika eterowego. Dla ułatwienia ilościowego przeniesienia roztworu na kolumnę, przenieść go wstępnie do zlewki o pojemności 100 cm^3. Wytarowaną i wysuszoną uprzednio kolbę Soxhleta umieścić pod wypływem z kolumny chromatograficznej tak, aby zapobiec rozpryskiwaniu się wypływającego eluentu. W tym celu użyć pręcik szklany umieszczony w takim położeniu, aby ciecz spływała po nim do kolby.

Ze zlewki o pojemności 100 cm^3 przenieść powoli próbkę na kolumnę za pomocą lejka z długą nóżką. Krystalizator i zlewkę przemyć dokładnie 50 cm^3 rozpuszczalnika eterowego, a rozpuszczalnik użyty do przemycia przenieść również na kolumnę. Otworzyć kran u dołu kolumny i po spłynięciu roztworu eterowego do wysokości około 5 mm nad adsorbentem, przemyć ścianki kolumny trzema porcjami rozpuszczalnika eterowego po 10 cm^3 każda, w taki sposób, aby warstwa rozpuszczalnika nad tlenkiem glinu wynosiła pomiędzy kolejnymi przemywaniami około 5 mm. Po przemyciu ścianek kolumny podłączyć do niej zbiornik zawierający 50 cm^3 rozpuszczalnika eterowego i odbierać eluat z szybkością 4÷6 cm^3/min. Dozowanie rozpuszczalnika eterowego ze zbiornika powinno być tak ustalone, aby nad adsorbentem utrzymywała się stale taka sama warstwa rozpuszczalnika, tj. około 5 mm. Po całkowitym wypływie eluatu z kolumny do kolby Soxhleta należy opłukać pręcik szklany i szyjkę kolby kilkoma cm^3 rozpuszczalnika eterowego z tryskawki.

Kolbę z roztworem tłuszczu neutralnego w rozpuszczalniku eterowym podłączyć do odparowywacza rotacyjnego lub zestawu do usuwania rozpuszczalników z doprowadzeniem azotu albo innego gazu obojętnego, o uprzednio ustalonym przepływie w granicach 2 ÷ 5 dm^3/min.

Odparowywanie należy prowadzić na łaźni wodnej do zaniku zapachu eteru. W celu usunięcia śladów ilości rozpuszczalnika, próbkę umieścić w dobrze wentylowanej suszarce na okres 1 h w temperaturze 105°C /czas suszenia liczy się od chwili uzyskania wymaganej temperatury po wstawieniu kolby do suszarki/ lub w suszarce próżniowej w temperaturze 68 ÷ 70°C przy próżni 80 mm słupa rtęci na okres 30 min. Po wysuszeniu kolby schłodzić w eksykatorze przez okres 30 min i zważyć. Powtarzać suszenie w temperaturze 105°C skracając jego czas do 30 min, chłodzenie i ważenie dotąd, aż różnica w masie próbki w dwóch kolejnych ważeniach nie będzie większa niż 0,002 g.

2.8. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość tłuszczu neutralnego /X/ w suchej masie oleju obliczyć w procentach wagowych wg wzoru

$$X = \frac{m_n \cdot 100}{m_s}$$

w którym:

m_n - masa tłuszczu neutralnego w badanej próbce, g,

m_s - masa pozostałości badanej próbki oleju po wysuszeniu - wg PN-73/A-86912 p. 2.3, g.

2.9. Powtarzalność i odtwarzalność. Dopuszczalna różnica w procentowej zawartości tłuszczu neutralnego pomiędzy dwoma równoległymi oznaczaniami w jednym laboratorium nie może być wyższa niż 0,2.

Różnica w wynikach oznaczania procentowej zawartości tłuszczu neutralnego pomiędzy laboratoriami nie może przekraczać 0,4.

2.10. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej dwóch równoległych oznaczań procentowej zawartości tłuszczu neutralnego, różniących się nie więcej niż 0,2. Wynik zaokrąglić do pierwszego znaku po przecinku, zgodnie z PN-70/N-02120, Metoda Z.

KONIEC

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę - Instytut Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego, Warszawa.

2. Normy związane

PN-76/A-86910 Tłuszcze roślinne jadalne. Pobieranie próbek i przygotowanie próbki laboratoryjnej

PN-76/A-86911 Tłuszcze roślinne jadalne. Metody badań. Przygotowanie próbek do analizy

PN-73/A-86912 Tłuszcze roślinne jadalne. Metody badań. Oznaczanie zawartości wody i substancji lotnych

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

3. Autor projektu normy - mgr inż. Teresa Płatek - Instytut Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego, Warszawa.