CH 12.24. Stanovenie triglyceridu kyseliny heptánovej v masle, maslovom oleji a smotane plynovochromatografickou analýzou triglyceridov

1. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Táto metóda je ustanovená ako metóda na stanovenie obsahu triglyceridu kyseliny heptánovej v masle , maslovom oleji a smotane.

2. PRINCÍP METÓDY

Analyzovaná dávka mliečneho tuku je rozpustená v hexáne. Kvantitatívne stanovenie obsahu triglyceridu kyseliny heptánovej je stanovené kapilárnou plynovou chromatografiou. Výsledok získaný pre vzorku sa vypočíta vo vzťahu ku triglyceridu kyseliny kapronovej (hexánovej) ako interného štandardu.

3. POMÔCKY

3.1. PRÍSTROJE A ZARIADENIA

- analytické váhy presnosti 1 mg
- sušiareň
- plynový chromatograf, vybavený on-column injektorom a plameňovo-ionizačným detektorom
- chromatografická kolóna kapilárna DB 5HT

3.2. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

3.2.1. n- hexán pre chromatografiu
3.2.2. triglycerid kyseliny heptánovej, minimálne 95 %-nej čistoty - štandard
3.2.2.1. zásobný roztok : naváži sa 100 mg triglyceridu kyseliny heptánovej a rozpustí v 10 ml n-hexánu, pripraví sa čerstvý
3.2.2.2. 1 ml zásobného roztoku 3.2.2.1. sa zriedi v 10 ml odmernej banke n-hexánom a doplní po značku.
3.2.3. triglycerid kyseliny hexánovej(kaprónovej), minimálne 99 %-nej čistoty – interný štandard
3.2.3.1. zásobný roztok: naváži sa 100 mg triglyceridu kyseliny kaprónovej a rozpustí sa v 10 ml n-hexánu, pripraví sa čerstvý
3.2.3.2. 1 ml zásobného roztoku 3.2.3.1. sa zriedi v 10 ml odmernej banke n-hexánom a doplní po značku.
3.2.4. kalibračný zmesný štandard: napipetuje sa 1 ml zásobného roztoku 3.2.2.2. a 1 ml roztoku 3.2.3.2. do 10 ml odmernej banky a doplní sa n-hexánom po značku
3.2.4.1. 1 ml kalibračného zmesného štandardu 3.2.4. sa napipetuje do 10 ml odmernej banky a doplní sa po značku n-hexánom.
3.2.5. síran sodný bezvodý, vysušený 2 hod. pri 102 °C

4. BEZPEČNOSŤ PRI PRÁCI

Nakoľko pri práci sa používajú horľaviny, je potrebné prísne dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003.

5. PRACOVNÝ POSTUP

5.1. PRÍPRAVA VZORKY

Maslo a maslový olej

5.1.1. Do kadičky sa vloží lievik s filtrom a s 0,5g až 1,0g síranu sodného bezvodého, na ktorý sa položí vzorka masla. Kadička s lievikom sa umiestni do sušiarne vyhriatej na 50 °C a vzorka sa nechá kompletne rozpustiť a prefiltrovať.
5.1.2. Do odmernej banky na 10 ml sa naváži 1 g vzorky s presnosťou na 1 mg
5.1.3. Pridá sa 1 ml roztoku interného štandardu (reagencia č.3.2.3.1.), doplní sa n-hexánom po značku a premieša
5.1.4. Roztok vzorky 5.1.3. s interným štandardom sa zriedi v 10 ml odmernej banke n-hexánom 10 krát . Vzorka je pripravená ne meranie.

Smotana

1. Vzorka sa zahrieva na teplotu 20 °C ± 2 °C.
2. pripraví sa cca 4 % hmotnostný roztok skúšobnej vzorky v objeme 100 ml hexánu.
3. pri extrakcii tuku zo smotany sa postupuje ako u mlieka – pozri ISO 14156 (IDF 172:2001 § 8.3)
4. V 10 ml odmerke navážiť 1g extrahovaného tuku s presnosťou na 1mg. Pridať 1 ml roztoku interného štandardu 3.2.3.2 a doplniť do 10 ml hexánom. Zhomogenizovať.
5. Do 10 ml odmerky odmerať 1 ml roztoku 4. a hexánom doplniť na objem 10 ml.

5.2. PRÍPRAVA MERANIA

Na meranie sa používa metóda vnútorného (interného) štandardu.
Pred začatím merania sa skontroluje a kondicionuje plynový chromatograf . Chromatografická kolóna sa prečistí nástrekom čistého rozpúšťadla .

5.3. MERANIE

Chromatografické podmienky

Kolóna: kapilárna, DB - 5HT
Nosný plyn: vodík
Tlak na kolóne: 89 kPa
Teplota detektora: 350 °C
Množstvo nastreknutej vzorky: 1μl

- Nastrekne sa 1 μl kalibračného zmesného štandardu 3.2.4.1. dvakrát.
- Nastrekne sa 1 μl každej vzorky (v postupe analýzy 5.1.4.).

- Po 6 nástrekoch vzoriek sa opakuje nástrek kalibračného štandardu (prakticky 3 vzorky s paralelkami sú vždy ohraničené dvoma štandardmi)

6. VYHODNOTENIE NAMERANÝCH ÚDAJOV

Výsledky sú založené na priemerných responzných faktoroch z chromatogramov štandardov.
V každom chromatograme sa zintegrujú píky prislúchajúce triglyceridom kyseliny heptánovej a kaprónovej. Podľa inštrukcií o meraní vzoriek ohraničených štandardmi sa označí štandard nastreknutý dvakrát pred vzorkami ako STD1 a štandard nastreknutý dvakrát hneď po nich ako STD2.

6.1. SPRACOVANIE NAMERANÝCH HODNÔT

Kalibrácia:

1. Vypočítajú sa responzné faktory pre každý duplicitný štandard STD1 , Rf1(a) a Rf1(b)

$$\text{Rf1(a) alebo (b)} = \frac{\text{Plocha píku triglyceridu kyseliny hexánovej}}{\text{Plocha píku triglyceridu kyseliny heptánovej}} \times 100$$

2. Vypočíta sa priemerný responzný faktor Rf1:

$$\text{Rf1} = \frac{\text{Rf1(a)} + \text{Rf1(b)}}{2}$$

3. Podobne sa vypočíta priemerný responzný faktor pre STD2, Rf2
4. Vypočíta sa priemerný responzný faktor , Rf:

$$\text{Rf} = \frac{\text{Rf1} + \text{Rf2}}{2}$$

Výpočet:

Pre každý chromatogram vzorky, získaný meraním medzi STD1 a STD2 sa vypočíta obsah triglyceridu kyseliny heptánovej c, v kg/t, nasledovne:

$$c = \frac{\text{Plocha píku triglyceridu kyseliny heptánovej} \times \text{Rf} \times 100}{},$$

Plocha píku triglyceridu kyseliny kaprónovej x Wt x 1000

kde
Wt je množstvo naváženej vzorky v g
100 je zrieďovací faktor pre vzorku
1000 je prepočítavací faktor (z μg /g na kg/t)

U vzoriek masla treba zohľadniť obsah tuku v masle a vypočítať správnu hodnotu koncentrácie C_{masla} v kg/t masla

$$C_{masla} = C_{tuku} \times F$$

Pričom F je obsah tuku v masle.

7. LITERATÚRA

7.1. Nariadenie komisie (ES) č. 273/2008, Príloha V, (Článok 5). Stanovenie obsahu triglyceridov kyseliny heptánovej v masle, maslovom oleji a smotane plynovou chromatografickou analýzou Triglyceridov

7.2. Manuál k plynovému chromatografu: „Understanding Your ChemStation“, Agilent Technologies, Deutschland GmbH 2003