

## МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ И ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ

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

Издание официальное

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 °C 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 °C, поддерживающий температуру с точностью 1 °C с насадочной колонкой, с точностью 0,1 °C 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.

Микрошиприц МШ-10 вместимостью 10 мм<sup>3</sup> и МШ-1 или Газхром 101 вместимостью 1 мм<sup>3</sup>.

Записывающее устройство со следующими характеристиками:

быстрота срабатывания менее 1,5 с;

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 реагентов, 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 <sup>3</sup> /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, °C	Концентрация неподвижной фазы, % (по массе)	Температура насадочной колонки, °C
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 °C до оптимальной со скоростью от 4 до 8 град/мин.

Хроматографирование продолжают при постоянной температуре до полного элюирования всех компонентов.

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

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

температура инжектора — 200—230 °C;

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

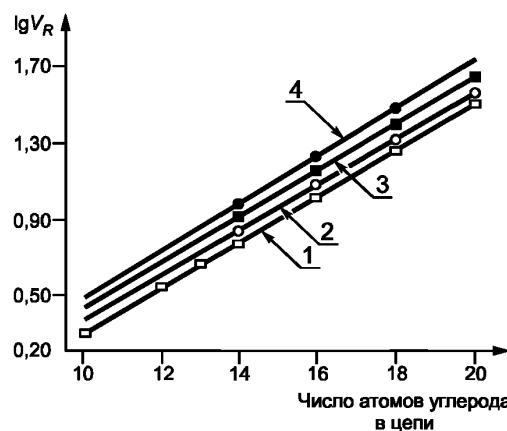
Отбирают микрошприцем от 0,1 до 2  $\text{мм}^3$  раствора метиловых эфиров жирных кислот, приготовленных из испытуемой пробы по ГОСТ Р 51486—99 и вводят в колонку.

Если эфиры не в растворе, то готовят раствор концентрации 100  $\text{мг}/\text{см}^3$  в гептане (или гексане) и вводят в колонку от 0,1 до 1  $\text{мм}^3$  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

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

где  $A_i$  — площадь пика метилового эфира каждой жирной кислоты ( $i$ ),  $\text{мм}^2$ ;

$\Sigma A_i$  — сумма площадей всех пиков метиловых эфиров жирных кислот,  $\text{мм}^2$ .

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

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

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

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

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

$\Sigma A_{ri}$  — сумма площадей всех пиков метиловых эфиров жирных кислот стандартной смеси,  $\text{мм}^2$ .

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

$$K'_i = \frac{K_i}{K_{C_{16}}}. \quad (4)$$

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

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

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

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

где  $A_i$  — площадь пика метилового эфира жирной кислоты ( $i$ ),  $\text{мм}^2$ ;

$A_s$  — площадь пика внутреннего стандарта,  $\text{мм}^2$ ;

$K'_i$  — относительный поправочный коэффициент метилового эфира жирной кислоты ( $i$ ) (по отношению к  $K_{C_{16}}$ );

$K'_s$  — относительный поправочный коэффициент для внутреннего стандарта (по отношению к  $K_{C_{16}}$ );

$m$  — 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

## A.1 Подготовка колонки при первоначальной организации работы на приборе

## A.1.1 Заполнение колонки

A.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 (полидиэтиленгликольсукинат, полибу坦диолсукинат, полиэтиленгликольдипинат и др.), цианосиликоны или какая-либо другая жидкость, обеспечивающая требуемое хроматографическое разделение.

A.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 (полибутандиолсукинат) или полярные полисилоксаны (цианосиликоны).

## A.1.2 Кондиционирование колонки

A.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.

A.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.

П р и м е ч а н и е — В промышленности выпускаются соответствующие предварительно кондиционированные капиллярные колонки.

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

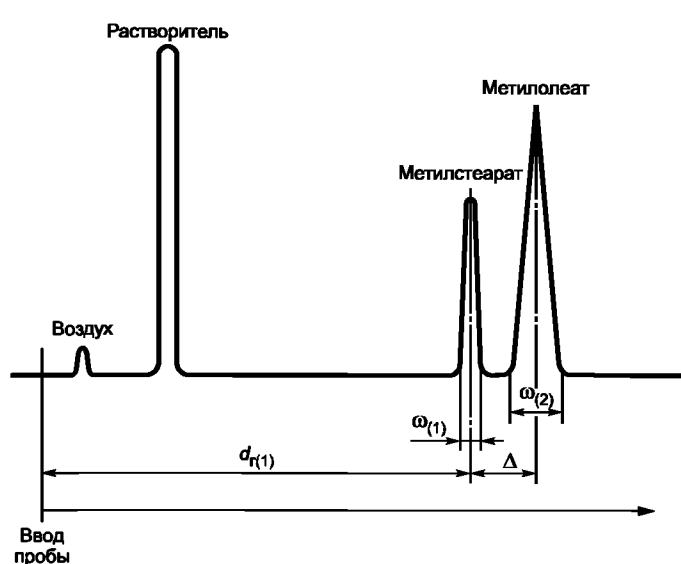


Рисунок А.1 — Хроматограмма для определения количества теоретических тарелок колонки (эффективности) и разрешающей способности

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  $\frac{3}{4}$  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

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

где  $d_{\gamma(1)}$  — расстояние 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

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

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

$\Delta$  — расстояние между максимумами пиков метилстеарата и метилолеата.

#### A.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

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

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

Подписано в печать 29.09.2005. Формат 60x84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. 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](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)

Набрано в ИПК Издательство стандартов на ПЭВМ.

Отпечатано в филиале ФГУП «Стандартинформ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.