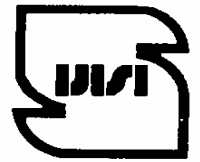




جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۹۷۰۷

چاپ اول

ISIRI

9707

1st.edition

روغن زیتون - اندازه‌گیری مقدار موم به وسیله
کروماتوگرافی گازی با ستون مویینه -
روش آزمون

Olive oil - Determination of wax content by
capillary column gas chromatography -
Test method



مرجع آموزش و خرید و فروش زیتون رودبار و حومه

www.zeytoonchi.ir

به نام خدا

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که مؤسسه استاندارد تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. مؤسسه می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست-محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) و وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد این گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آنها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) و وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این مؤسسه است.

* مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

1 - International Organization for Standardization

2 - International Electrotechnical Commission

3 - International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrologie Legal)

4 - Contact point

5 - Codex Alimentarius Commission

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
تهران - خیابان ولیعصر، ضلع جنوبی میدان ونک، پلاک ۱۲۹۴، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۳۹
تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱
دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳
کرج - شهر صنعتی، صندوق پستی ۳۱۵۸۵-۱۶۳
تلفن: ۸-۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶۱)
دورنگار: ۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶۱)
پیام نگار: standard@isiri.org.ir
وبگاه: www.isiri.org
بخش فروش، تلفن: ۲۸۱۸۹۸۹ (۰۲۶۱)، دورنگار: ۲۸۱۸۷۸۷ (۰۲۶۱)
بها: ۱۵۰۰ ریال

Institute of Standards and Industrial Research of IRAN
Central Office: No.1294 Valiaser Ave. Vanak corner, Tehran, Iran
P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran
Tel: +98 (21) 88879461-5
Fax: +98 (21) 88887080, 88887103
Headquarters: Standard Square, Karaj, Iran
P.O. Box: 31585-163
Tel: +98 (261) 2806031-8
Fax: +98 (261) 2808114
Email: standard@isiri.org.ir
Website: www.isiri.org
Sales Dep.: Tel: +98(261) 2818989, Fax.: +98(261) 2818787
Price 1500 Rls.

پیش گفتار

استاندارد " روغن زیتون - اندازه‌گیری مقدار موم به وسیله کروماتوگرافی گازی با ستون مویینه - روش آزمون " که پیش نویس آن در کمیسیون‌های مربوط توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران تهیه و تدوین شده و در ششصد و هفتاد و پنجمین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده های کشاورزی مورخ ۸۶/۱۱/۲۷ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدیدنظر خواهند شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

منبع و مآخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته، به شرح زیر است :

IOOC COI/T.20/Doc.no.18/Rev.2: 2003, Method of analysis – Determination of wax content by capillary column gas chromatography.

کمیسیون فنی تدوین استاندارد
" روغن زیتون - اندازه‌گیری مقدار موم به وسیله کروماتوگرافی گازی با ستون موئینه
- روش آزمون "

رئیس:

مالک، فرشته

(فوق لیسانس علوم و صنایع غذایی)

دبیر:

رشیدی، لادن

(فوق لیسانس مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی)

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفباء)

امیرحسینی، شهرزاد

(لیسانس مهندسی کشاورزی گیاه پزشکی)

صفافر، حامد

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

عشرت آبادی، پروین

(دکترای تخصصی علوم و صنایع غذایی)

غفاری، فرحناز

(فوق لیسانس بهداشت در تغذیه)

قلی پور، نوشین

(فوق لیسانس مهندسی شیمی - ترموسینتیک)

کاوسی، پرویز

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

کلانتری، فرانک

(فوق لیسانس مهندسی شیمی)

سمت و / یا نمایندگی

شرکت فرآیند ابزار روغن (سهامی خاص)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی (سهامی خاص)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل
آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

وزارت جهاد کشاورزی - دفتر طرح زیتون

شرکت صنعتی بهشهر (سهامی عام)

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ج	آشنایی با موسسه استاندارد
د	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
و	پیش گفتار
۱	۱ هدف
۱	۲ دامنه کاربرد
۱	۳ مراجع الزامی
۱	۴ اصول آزمون
۲	۵ مواد و/یا واکنشگرها
۴	۶ وسایل لازم
۵	۷ نمونه برداری
۶	۸ روش انجام آزمون
۹	۹ بیان نتایج
۱۱	۱۰ دقت
۱۱	۱۱ گزارش آزمون
۱۲	۱۲ پیوست الف (اطلاعاتی) نتایج آزمون بین آزمایشگاهی

روغن زیتون - اندازه‌گیری مقدار موم به وسیله کروماتوگرافی گازی با ستون مویینه - روش آزمون

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین و ارائه روش اندازه‌گیری مقدار موم موجود در روغن زیتون است که در آن موم‌های خاص براساس تعداد اتم‌های کربن جداسازی و تعیین مقدار می‌شوند.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد برای تعیین مقدار موم در انواع روغن زیتون کاربرد دارد. همچنین روش ارائه شده در این استاندارد برای تشخیص روغن زیتون به دست آمده به وسیله فرایند تحت فشار (استخراج مکانیکی) از روغن زیتون حاصل از تفاله زیتون (روغن تفاله زیتون) پیشنهاد می‌شود.

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود. در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ایران: ۱-۷۴۴۲، سال ۱۳۸۳، درستی (صحت و دقت) روشها و نتایج اندازه‌گیری قسمت اول: تعاریف و اصول کلی.

۲-۳ استاندارد ملی ایران: ۲-۷۴۴۲، سال ۱۳۸۴، درستی (صحت و دقت) روشها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت دوم روش پایه برای تعیین تکرارپذیری و تجدیدپذیری روش اندازه‌گیری استاندارد

۳-۳ استاندارد ملی ایران: ۳-۷۴۴۲، سال ۱۳۸۳، درستی (صحت و دقت) روشها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت سوم اندازه‌های دقت مبانی یک روش اندازه‌گیری

۴ اصول آزمون

ابتدا یک استاندارد داخلی مناسب به روغن اضافه می‌شود، سپس جداسازی به وسیله کروماتوگرافی بر روی یک ستون سیلیکاژل هیدراته (آب‌دار) انجام می‌گردد. جزء خارج شده از ستون تحت شرایط آزمایش (که قطبیت کمتری از تری گلیسریدها دارد)، بازیافت شده و سپس مستقیماً" به وسیله کروماتوگرافی گازی با ستون مویینه مورد شناسایی قرار می‌گیرد.

۵ مواد و/یا واکنشگرها

۱-۵ سیلیکاژل، با اندازه ذرات ۶۰ میکرومتر تا ۲۰۰ میکرومتر. سیلیکاژل را در کوره‌ای با دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس به مدت زمان حداقل ۴ ساعت قرار دهید. اجازه دهید تا سیلیکاژل در دسیکاتور سرد شود، پس از سرد شدن، به مقدار سیلیکاژل مورد استفاده، ۲ درصد وزنی آب به آن اضافه نمائید و بهم بزنید تا دوغاب یکنواختی تشکیل شود. قبل از استفاده، دوغاب ایجاد شده را حداقل به مدت ۱۲ ساعت در تاریکی نگه‌دارید.

۲-۵ هگزان نرمال، مناسب برای کروماتوگرافی گازی

هشدار- بخارات آن مشتعل می‌شود، بنابراین آن را از منابع گرمایشی (حرارتی)، جرقه الکتریکی و شعله آتش دور نگه‌دارید. همیشه از بسته بودن در بطری‌های حاوی حلال هگزان اطمینان حاصل کنید. هنگام استفاده از این حلال از تهویه مناسب محیط مطمئن شوید. از به وجود آمدن بخارات جلوگیری کنید و امکان هر خطر آتش‌زایی را، از قبیل: وسایل گرمایشی یا وسایل الکتریکی، که از ماده غیرقابل اشتعال ساخته نشده‌اند، از محیط دور کنید. اگر این حلال استنشاق شود، زیانبار است، زیرا می‌تواند به سلول‌های سیستم عصبی آسیب برساند. از تنفس کردن بخارات هگزان پرهیز کنید. در صورت نیاز، از یک وسیله مناسب تنفسی استفاده کنید. از تماس مستقیم هگزان با چشم و پوست پرهیز نمائید.

۳-۵ اتر اتیل، مناسب برای کروماتوگرافی گازی

هشدار- این حلال به شدت قابل اشتعال و نسبتاً سمی است. پوست را تحریک می‌کند، اگر استنشاق شود، زیانبار است. این حلال می‌تواند به چشم آسیب برساند. این اثرات می‌توانند با تاخیر رخ دهند. این حلال می‌تواند پراکسیدهای قابل اشتعال را تولید کند. بخارات آن مشتعل می‌شود. آن را از منابع حرارتی، جرقه الکتریکی، یا شعله‌های آتش دور نگه‌دارید. همیشه از بسته بودن در بطری‌های حاوی حلال اتیل اتر اطمینان حاصل کنید. هنگام استفاده از این حلال از تهویه مناسب محیط مطمئن شوید. از به وجود آمدن بخارات جلوگیری کنید و امکان هر خطر آتش‌زایی را، از قبیل: وسایل گرمایشی یا وسایل الکتریکی، که از ماده غیرقابل اشتعال ساخته نشده‌اند، از محیط دور کنید. از تبخیر حلال به منظور خشک کردن یا نیمه خشک کردن آن پرهیز کنید. افزودن آب یا یک عامل

احیاء‌کننده مناسب به این حلال می‌تواند تشکیل پراکسید را کاهش دهد. از آشامیدن آن پرهیز کنید. از تنفس کردن بخارات اتیل اتر پرهیز کنید. از تماس طولانی یا مکرر آن با پوست پرهیز نمایید.

۴-۵ هپتان نرمال، مناسب برای کروماتوگرافی گازی

هشدار- قابل اشتعال است، اگر استنشاق شود، زینبار است. آن را از منابع حرارتی، جرقه الکتریکی، یا شعله‌های آتش دور نگه دارید. همیشه از بسته بودن در بطری‌های حاوی این حلال اطمینان حاصل کنید. هنگام استفاده از این حلال از تهویه مناسب محیط مطمئن شوید. از تنفس طولانی بخارات آن پرهیز کنید. از تماس طولانی یا مکرر آن با پوست پرهیز نمایید.

۵-۵ محلول استاندارد لاوریل آراشیدات^۱

با نسبت ۰/۱ درصد (جرم به حجم) در هگزان (به عنوان استاندارد داخلی)

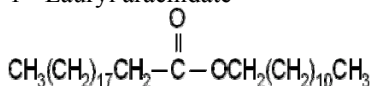
یادآوری- همچنین می‌توان از پالمیتات پالمیتیل یا استئارات میریستیل استفاده کرد.

۱-۵-۵ سودان یک (۱-فنیل آزو-۲-نفتول)^۲

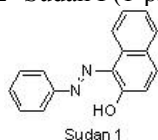
۶-۵ گاز حامل، هیدروژن یا هلیوم، خالص، مناسب برای کروماتوگرافی گازی

هشدار- هیدروژن، تحت فشار، بسیار قابل اشتعال است. آن را از منابع حرارتی، جرقه الکتریکی، شعله‌های آتش یا وسایل الکتریکی که از ماده غیرقابل اشتعال ساخته نشده‌اند، دور نگه دارید. هنگامی که از آن استفاده نمی‌کنید، از بسته بودن شیر کپسول حاوی این گاز اطمینان حاصل کنید. همیشه هنگام استفاده از آن از یک کاهنده فشار (رگلاتور) استفاده کنید. قبل از بازکردن شیر کپسول، فنر فشار شکن (شیر رگلاتور) را کاملاً باز کنید. هنگام باز کردن شیر در مقابل خروجی کپسول نباشید. هنگام استفاده از این گاز از تهویه مناسب محیط مطمئن شوید. هیدروژن را از یک کپسول به کپسول دیگر انتقال ندهید. گاز درون کپسول را مخلوط نکنید. کپسول‌ها نباید زیاد به هم برخورد کنند. آنها را از نور خورشید و منابع حرارتی دور نگه دارید. این گاز را در یک محیط فاقد مواد

1 - Lauryl arachidate



2 -Sudan I (1-phenylazo-2-naphthol)



خورنده ذخیره (انبار) کنید. از کپسول‌های حاوی این گاز که فاقد برچسب یا آسیب دیده هستند، استفاده نکنید.

هشدار- هلیوم، گاز فشرده شده در فشار بالا است. این گاز مقدار اکسیژن قابل دسترس برای تنفس را کاهش می‌دهد. در کپسول را بسته نگه دارید. هنگام استفاده از این گاز از تهویه مناسب محیط مطمئن شوید. همیشه از کاهنده فشار استفاده کنید. قبل از بازکردن شیر کپسول، فنر فشار شکن (شیر رگلاتور) را کاملاً باز کنید. گاز هلیوم را از یک کپسول به کپسول دیگر انتقال ندهید. گاز درون کپسول را مخلوط نکنید. اطمینان حاصل کنید که کپسول‌ها زیاد با هم برخورد نداشته باشند. هنگام باز کردن شیر در مقابل خروجی کپسول قرار نگیرید. آنها را از نور خورشید و منابع حرارتی دور نگه دارید. این گاز را در یک محیط فاقد مواد خورنده ذخیره (انبار) کنید. آن را استنشاق نکنید. از این گاز فقط برای انجام آزمایش استفاده نمائید.

۷-۵ گازهای کمکی

۱-۷-۵ هیدروژن، خالص، مناسب برای کروماتوگرافی گازی

۲-۷-۵ هوای، خالص، مناسب برای کروماتوگرافی گازی

هشدار- هوا، گاز فشرده شده در فشار زیاد است. هنگام استفاده از این گاز در حضور مواد قابل احتراق احتیاط کنید، زیرا دمای خود-اشتعالی اکثر ترکیبات آلی موجود در هوا به طور قابل توجهی، در فشار بالا پایین تر است.

هنگامی که از آن استفاده نمی‌کنید، از بسته بودن شیر کپسول هوا اطمینان حاصل کنید. همیشه از یک کاهنده فشار (رگلاتور) استفاده کنید. قبل از بازکردن شیر کپسول، فشار شکن (شیر رگلاتور) را کاملاً باز کنید. هنگام باز کردن شیر در مقابل خروجی کپسول قرار نگیرید. گاز را از یک کپسول به کپسول دیگر انتقال ندهید. گاز درون کپسول را مخلوط نکنید. اطمینان حاصل کنید که کپسول‌ها زیاد با هم برخورد نداشته باشند. آنها را از نور خورشید و منابع حرارتی دور نگه دارید. کپسول حاوی این گاز را در یک محیط فاقد مواد خورنده ذخیره (انبار) کنید. از کپسول‌های فاقد برچسب یا آسیب دیده استفاده نکنید. هوای مورد استفاده برای انجام آزمایش نباید برای استنشاق یا وسایل تنفسی استفاده شود.

۸-۵ موم‌های خالص، C40 تا C44

۶ وسایل لازم

۱-۶ ارلن مایر، ۲۵ میلی لیتر

۲-۶ ستون شیشه‌ای، برای کروماتوگرافی مایع، با قطر داخلی ۱۵/۰ میلی‌متر و طول ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر، دارای یک شیر تفلون و مقدار مناسبی از پشم شیشه، که در انتهای ستون قرار داده می‌شود.

۳-۶ کروماتوگراف گازی، برای استفاده با یک ستون موئینه، مجهز به یک سامانه برای تزریق مستقیم به سر- ستون، که متشکل از موارد زیر می‌باشد:

۱-۳-۶ آون دارای تنظیم‌کننده- کنترل‌کننده دما با قابلیت برنامه‌ریزی دمایی

۲-۳-۶ تزریق‌کننده سرد، برای تزریق به سر- ستون

۳-۳-۶ آشکارساز یونش شعله و تقویت‌کننده-تبدیل‌کننده

۴-۳-۶ ثبات-انتگرال‌گیر (به یادآوری رجوع شود)، برای استفاده با تقویت‌کننده-تبدیل‌کننده (طبق بند ۳-۳-۶)، سرعت پاسخ زیر یک ثانیه، همراه با سرعت کاغذ تغییرپذیر.

یادآوری- همچنین سامانه‌های کامپیوتری را می‌توان به کار برد، جایی که در داده‌های کروماتوگرافی گازی از طریق یک PC وارد می‌شوند.

۵-۳-۶ ستون موئینه، سیلیکای شیشه‌ای یا مذاب^۱، طول ۸ متر تا ۱۲ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر تا ۰/۳۲ میلی‌متر، که از درون به وسیله فاز مایعی با ضخامت یکنواخت ۰/۱۰ میکرومتر تا ۰/۳۰ میکرومتر پوشش داده شده است (به یادآوری رجوع شود).

یادآوری- فازهای مایع مناسب تجاری دیگری برای این منظور، از قبیل: SE52, SE54 و غیره در دسترس می‌باشند.

۴-۶ میکروسرنج، برای تزریق به سر- ستون، ۱۰ میکرولیتری، همراه با یک سوزن سخت و مقاوم

۵-۶ شیکر(هم‌زن) الکتریکی

۶-۶ تبخیرکننده گردان

۷-۶ کوره

۸-۶ ترازوی آزمایشگاهی، برای توزین، با دقتی در حدود $\pm 0/1$ میلی‌گرم

۹-۶ شیشه آلات معمول آزمایشگاهی

۱۰-۶ بالن ۲۰۰ میلی‌متری

۱۱-۶ دستگاه روتاری

1 -Glass or fused silica

۷ نمونه برداری

نمونه‌ای که توسط آزمایشگاه دریافت می‌شود، باید به طور حقیقی نمایانگر یک نمونه واقعی باشد و در طی حمل و نقل یا انبارداری آسیب ندیده و یا تغییر نکرده باشد. این استاندارد روش نمونه‌برداری را در بر نمی‌گیرد. از روش نمونه‌برداری ارائه شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۴۹۳ سال ۱۳۸۳ استفاده کنید.

۸ روش انجام آزمون

۱-۸ آماده‌سازی ستون کروماتوگرافی

۱۵ گرم از سیلیکاژل (طبق بند ۵-۱) را در هگزان نرمال (طبق بند ۵-۲) به حالت تعلیق در آورید و آن را وارد ستون (طبق بند ۶-۲) کنید. به کمک یک شیکرالکتریکی (طبق بند ۶-۵) رسوب‌گذاری مواد را کامل کنید تا نوار کروماتوگرافی یکنواخت‌تر و همگن‌تر شود. ۳۰ میلی‌لیتر هگزان نرمال را به منظور زدایش هر گونه ناخالصی به داخل ستون بریزید. حدود ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه را با دقت، با استفاده از یک ترازوی آزمایشگاهی (طبق بند ۶-۸) در داخل ارلن مایر ۲۵ میلی‌لیتری (طبق بند ۶-۱) توزین نمائید، و حجم مناسبی از استاندارد داخلی را، برحسب مقدار موم مورد انتظار در نمونه روغن به آن بیافزائید، به طور مثال، در مورد نمونه روغن زیتون، ۰/۱ میلی‌گرم از لاوریل آراشیدات و در نمونه روغن تفاله زیتون ۰/۲۵ میلی‌گرم تا ۰/۵ میلی‌گرم از لاوریل آراشیدات.

نمونه آماده شده را با کمک دو قسمت (جزء جداگانه‌ی) دو میلی‌لیتری از حلال هگزان (طبق بند ۵-۲) به ستون کروماتوگرافی انتقال دهید. اجازه دهید تا حلال، تا یک میلی‌لیتر بالاتر از بالاترین سطح ماده جاذب جاری شود. ۷۰ میلی‌لیتر دیگر از حلال هگزان نرمال را به منظور زدایش آلکان‌های نرمالی که به طور طبیعی در نمونه وجود دارند، داخل ستون ریخته و خروجی آن را دور بریزید. سپس خروجی کروماتوگرافی را با جمع‌آوری ۱۸۰ میلی‌لیتر از مخلوط هگزان نرمال / اتیل اتر (به یادآوری ۱ و ۲ رجوع شود)، با نسبت ۹۹ به یک (۱:۹۹)، با سرعت جریان معادل با ۱۵ قطره در هر ۱۰ ثانیه آغاز کنید. دمای محیطی که خروجی نمونه در آن قرار می‌گیرد باید در حدود 22 ± 4 درجه سلسیوس باشد.

جزء به دست آمده را در یک تبخیرکننده گردان (طبق بند ۶-۶) تبخیر نمائید تا بیشتر حلال آن زدوده شود. ۲ میلی‌لیتر آخر حلال را تحت جریان ضعیفی از نیتروژن بزدا کنید، سپس ۲ میلی‌لیتر تا ۴ میلی‌لیتر از هپتان نرمال را به آن بیافزائید.

یادآوری ۱- مخلوط هگزان نرمال/اتیل اتر (۹۹:۱) باید به طور تازه در هر روز آماده شود.

یادآوری ۲- ۱۰۰ میکرولیتر از رنگ سودان یک به میزان ۱ درصد در مخلوط خروجی را می‌توان به محلول نمونه اضافه کرد تا به طور بصری کنترل شود که موم‌ها به طور مناسب خارج شده‌اند. زمان بازداری رنگ مابین زمان بازداری موم‌ها و تری گلیسریدها واقع می‌شود. از این رو، هنگامی که رنگ به انتهای ستون کروماتوگرافی می‌رسد، ماده خروجی باید به حالت تعلیق درآید، زیرا همه موم‌ها خارج شده‌اند.

۲-۸ جداسازی و شناسایی به وسیله کروماتوگرافی گازی

۱-۲-۸ روش مقدماتی

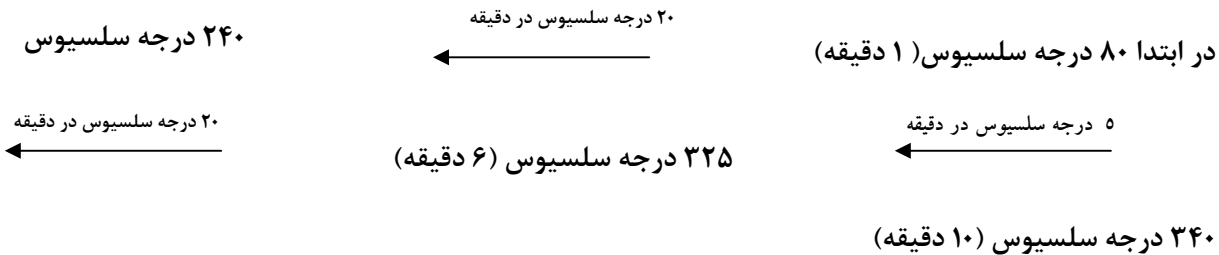
ستون را در دستگاه کروماتوگرافی گازی (طبق بند ۶-۳) نصب کنید، ورودی آن را به سر-ستون و خروجی آن را به آشکارساز متصل کنید. دستگاه کروماتوگراف گازی را (عملکرد چرخه گاز، کارائی ثبات و آشکارساز و غیره) را کنترل کنید.

اگر ستون برای اولین بار است که مورد استفاده قرار می‌گیرد، پیشنهاد می‌شود تا آن را طبق دستورالعمل سازنده ستون آماده‌سازی نمائید. جریان ملایمی از گاز را از میان ستون عبور دهید، سپس دستگاه کروماتوگراف گازی را روشن کنید. به تدریج حرارت را افزایش داده تا دما تقریباً پس از ۴ ساعت به ۳۵۰ درجه سلسیوس برسد. دستگاه را حداقل به مدت ۲ ساعت در این دما نگه‌دارید، سپس دستگاه را در شرایط کاری مورد نظر (تنظیم شدت جریان گاز، شعله ملایم، اتصال به ثبات الکترونیکی (طبق بند ۶-۳-۴)، تنظیم دمای آن برای ستون، تنظیم آشکارساز، غیره) تنظیم نمائید. حساسیت دستگاه را در میزان مناسبی تنظیم نمائید. خط پایه باید به صورت خطی و فاقد هر نوع پیکی باشد، و نباید از مسیر خود منحرف شود. تغییر جهت خط-مستقیم پایه به سمت منفی، بیانگر آن است که اتصالات ستون درست و صحیح نبوده و تغییر جهت آن به سمت مثبت بیانگر آن است که ستون به طور مناسبی آماده‌سازی نشده است.

۲-۲-۸ انتخاب شرایط کاری مورد نظر (به یادآوری رجوع شود)

شرایط مطلوب عملیاتی معمولاً به شرح زیر می باشد:

دمای ستون:



دمای آشکارساز: ۳۵۰ درجه سلسیوس

مقدار تزریق شده: ۱ میکرولیتر از محلول هپتان نرمال (۲ میلی لیتر تا ۴ میلی لیتر)
گاز حامل: هلیوم یا هیدروژن در سرعت خطی بهینه برای گاز انتخاب شده

تعیین سرعت خطی گاز حامل - بعد از تنظیم دستگاه و رسیدن به شرایط کاری مورد نظر، یک تا ۳ میکرولیتر از متان (یا پروپان) را به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق کنید. زمانی را که گاز، از لحظه‌ای که به دستگاه تزریق شده است تا زمانی که پیک‌ها (tM) ظاهر می‌شوند، و گاز در داخل ستون حرکت می‌کند، را اندازه بگیرید. سرعت خطی برحسب سانتی‌متر در ثانیه به وسیله فرمول L/tM محاسبه می‌شود که در آن L طول ستون و برحسب سانتی‌متر است و tM زمان اندازه‌گیری شده برحسب ثانیه است.

یادآوری - به دلیل بالا بودن درجه حرارت نهائی، انحراف مسیر خط پایه به سمت مثبت مجاز است، اما نباید از ۱۰ درصد مقیاس کل بیشتر باشد.

حساسیت دستگاه: مناسب برای رسیدن به شرایط فوق

این شرایط را می‌توان به منظور متناسب شدن ویژگی‌های ستون و دستگاه کروماتوگراف گازی برای جداسازی همه موم‌ها و به دست آوردن جداسازی مطلوب پیک (به شکل یک رجوع شود) تغییر داد. زمان بازداری استاندارد داخلی باید 3 ± 18 دقیقه باشد و پیک نمایانگر موم‌ها باید بیش از ۶۰ درصد مقدار مقیاس کل باشد. محدوده‌های انتگرال‌گیری پیک را با این روش تعیین کنید، که ارزیابی صحیحی از سطح پیک‌های مورد نظر به دست آید.

۳-۸ انجام عملیات جداسازی و شناسایی پیک

یک میکرولیتر از محلول را به کمک میکروسرنگ ۱۰ میکرولیتری بردارید، پیستون را به آرامی عقب بکشید تا سر سوزن خالی شود. سوزن را در سامانه تزریق وارد کرده و بعد از یک ثانیه تا دو ثانیه به سرعت محتویات سرنگ را تزریق کنید. بعد از ۵ ثانیه به آرامی سوزن را خارج کنید.

صبر کنید تا مومها به طور کامل از ستون خارج شوند. خط پایه همیشه باید در شرایط مطلوب باشد.

۴-۸ شناسایی پیک

پیکها را از طریق مقایسه زمانهای بازداریشان با زمانهای بازداری شناخته شده مخلوطی از مومها (طبق بند ۵-۸) شناسایی کنید و تحت شرایط مشابه جداسازی و شناسایی نمائید. شکل ۱ کروماتوگرامی از مومها را در یک نمونه روغن زیتون طبیعی نشان می‌دهد.

۵-۸ تجزیه کمی

مساحت‌های پیکها را به کمک انتگرال‌گیری، مطابق با استاندارد داخلی و استرهای آلیفاتیک از C40 تا C46 تعیین کنید. مقدار موم هر استر را، برحسب میلی‌گرم در کیلوگرم چربی، از طریق فرمول زیر محاسبه کنید:

$$\text{مقدار استر برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم} = \frac{A_X \times m_s \times 1000}{A_s \times m}$$

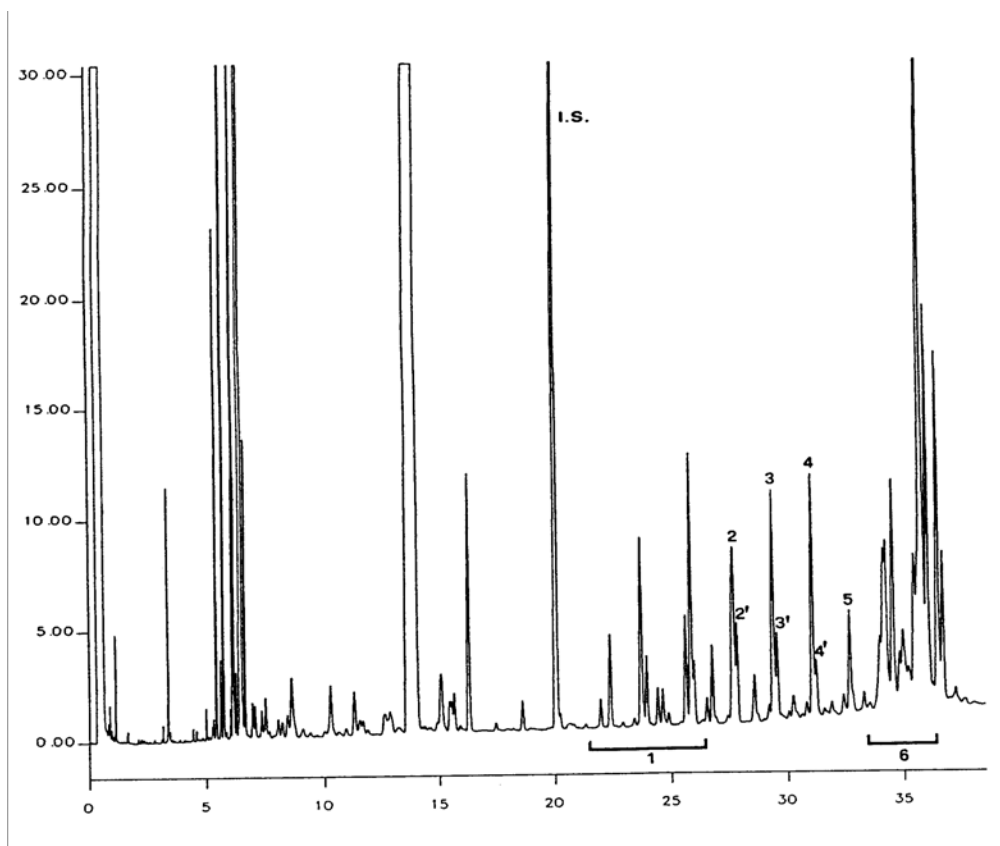
که در آن:

A_X	مساحت پیک هر استر مجزا، برحسب میلی‌متر مربع
A_s	مساحت پیک استاندارد داخلی، برحسب میلی‌متر مربع
m_s	وزن استاندارد داخلی اضافه شده، برحسب میلی‌گرم
m	وزن نمونه برداشته شده برای اندازه‌گیری، برحسب گرم

۹ بیان نتایج

مجموع مقادیر مومهای مختلف را از C40 تا C46 (به یادآوری رجوع شود) برحسب میلی‌گرم در کیلوگرم چربی (ppm) گزارش کنید. نتایج باید با یک رقم اعشار بیان شوند.

یادآوری- برای تعیین مقدار ترکیبات به پیک‌هایی با تعداد اتم کربن زوج در میان استرهای C40 تا C46 رجوع می‌شود، طبق نمونه کروماتوگرامی که از موم موجود در روغن زیتون تهیه شده است (شکل ۱). به منظور شناسایی، اگر استر C46 تفکیک شده باشد، پیشنهاد می‌شود تا از آن جایی که در روغن تفاله زیتون پیک C46 غالب است، برای شناسایی آن یک نمونه از روغن تفاله زیتون را تزریق نمائید.



لاوریل آراشیدات	I.S
استرهای دی ترپنیک	1
استرهای C40	2+2'
استرهای C42	3+3'
استرهای C44	4+4'
استرهای C46	5
استرهای استرولها و الکل‌های تری ترپنی	6

شکل ۱- نمونه گاز کروماتوگرام جزء مومی یک نمونه روغن زیتون^۱

^۱ - پس از خروج استرهای استرولی، شناسایی گاز کروماتوگرافی نباید هیچ نوع پیک با اهمیتی (تری گلیسریدها) را نشان دهد.

۱۰ دقت

۱-۱۰ آزمون بین آزمایشگاهی

جزئیات یک آزمون بین آزمایشگاهی برای دقت روش در پیوست الف خلاصه شده است. مقادیر حاصل از انجام این آزمون بین آزمایشگاهی برای محدوده غلظت و مواد دیگر، به جز آن‌ها که در پیوست الف داده شده است، کاربردی ندارد.

۲-۱۰ تکرار پذیری

اختلاف مطلق ما بین دو نتیجه آزمون مجزا و مستقل، حاصل از یک روش آزمون بر روی یک ماده مورد آزمایش معین در آزمایشگاهی یکسان توسط یک آزمایشگر و با کاربرد وسایل و تجهیزات یکسان در فاصله زمانی کوتاه، در بیش از ۵٪ موارد بیشتر از مقدار r داده شده در جدول الف-۱ نباشد.

۳-۱۰ تجدیدپذیری

اختلاف مطلق بین دو نتیجه آزمون مجزای حاصل از یک روش آزمون و یک ماده مورد آزمایش معین و یکسان در آزمایشگاه‌های مختلف که توسط آزمایشگرها و با استفاده از وسایل و تجهیزات مختلف انجام می‌شود، در بیش از ۵٪ موارد، نباید بیشتر از مقدار R داده شده در جدول الف-۱ باشد.

۱۱ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی‌های زیر باشد:

- ۱-۱۱ همه داده‌های ضروری، به منظور شناسایی کامل نمونه
- ۲-۱۱ روش نمونه‌گیری به کار برده شده، اگر شناخته شده باشد.
- ۳-۱۱ روش آزمون طبق استاندارد ملی ایران شماره ۹۷۰۷ سال ۱۳۸۷
- ۴-۱۱ همه جزئیات مربوط به انجام آزمون که در این استاندارد ملی مشخص نشده یا به صورت اختیاری مورد توجه قرار گرفته است، همراه با جزئیات هر پدیده‌ای که هنگام اجرای روش آزمون رخ داده، که می‌تواند بر نتیجه آزمایش اثر گذار باشد.
- ۵-۱۱ نتیجه آزمایش به دست آمده
- ۶-۱۱ اگر تکرار پذیری کنترل شده باشد، نتیجه نهایی بدست آمده است.
- ۷-۱۱ نام و نام خانوادگی و امضاء فرد آزمایش کننده
- ۸-۱۱ تاریخ انجام آزمون
- ۹-۱۱ محل انجام آزمون

پیوست الف

(اطلاعاتی)

آزمون بین آزمایشگاهی

مقادیر دقت روش در جدول الف-۱ ارائه شده است. ۱۹ آزمایشگاه با رسمیت IOOC در آزمایش مشارکتی سازمان یافته توسط دبیرخانه اجرایی، سال ۱۹۹۹، شرکت کردند. آزمایشگاه‌ها از هشت کشور بودند. آزمایش بر روی پنج نمونه انجام شد:

الف- روغن زیتون طبیعی ممتاز

ب- روغن زیتون طبیعی + روغن آفتابگردان تصفیه شده

پ- روغن زیتون طبیعی + روغن تفاله زیتون تصفیه شده

ت- روغن زیتون طبیعی + روغن سویا تصفیه شده + روغن آفتابگردان تصفیه شده

ث- روغن زیتون تصفیه شده + روغن تفاله زیتون تصفیه شده + روغن سویا تصفیه شده + روغن زیتون طبیعی لامپانت

نتایج آزمایش مشارکتی به وسیله دبیرخانه اجرایی IOOC به طور آماری مطابق با استانداردهای بین‌المللی ایزو به شماره‌های ۱-۵۷۲۵ و ۲-۵۷۲۵ (استانداردهای ملی ایران به شماره‌های ۱-۷۴۴۲ و ۲-۷۴۴۲ تهیه شدند. نتایج خارج از محدوده به دست آمده با استفاده از آزمون‌های Cochran و Grubb برای تعیین هر یک از نتایج آزمایشگاهی (تکرارهای الف و ب) و هر نمونه مورد آزمایش قرار گرفتند.

جدول الف - ۱ - نتایج حاصل از آزمون بین آزمایشگاهی

نمونه					شاخص
ث	ت	پ	ب	الف	
۱۹	۱۹	۱۹	۱۹	۱۹	تعداد آزمایشگاه های شرکت کننده
۵	۳	۴	۵	۵	تعداد آزمایشگاه های دارای نتایج خارج از محدوده
۳۴۵/۹۳	۱۷۴/۱	۲۲۲/۴۱	۱۲۳/۱۴	۱۲۰/۳۲	میانگین نتایج پذیرفته شده
۱۴/۹۱	۱۲/۲۲	۱۰/۵۱	۱۲/۵۶	۹/۵۱	حد تکرار پذیری $r (s_r \times 2/8)$
۵/۳۲	۴/۷۲	۳/۷۵	۴/۴۸	۳/۳۹	انحراف استاندارد تکرار پذیری (s_r)
۱/۵۴	۲/۷۱	۱/۶۹	۳/۶۴	۲/۸۲	ضریب تکرار پذیری متغییر RDS_r % (مقدار میانگین/۱۰۰ $(s_r \times 100)$)
۴۴/۳۹	۲۵/۶۵	۵۸/۹۳	۴۸/۸۹	۳۸/۸۳	حد تجدید پذیری $R (s_R \times 2/8)$
۱۵/۸۵	۹/۱۶	۲۱/۰۴	۱۷/۴۶	۱۳/۸۶	انحراف استاندارد تجدید پذیری s_R
۴/۵۸	۵/۲۶	۹/۴۶	۱۴/۱۸	۱۱/۵۳	ضریب تجدید پذیری متغییر RDS_R (%) (مقدار میانگین/۱۰۰ $(s_R \times 100)$)

ICS: 67.200.10

صفحه : ۱۲
