



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۹۷۱۰

چاپ اول

ISIRI

9710

1st.edition

روغن زیتون - اندازه گیری مقدار استیرن ها در
روغن های گیاهی تصفیه شده - روش آزمون

**Olive oil -Determination of content sterenes in
refined vegetable oils – 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 زیست‌محیطی،

* 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

آزمایشگاه‌ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش ، مؤسسه استاندارد این‌گونه 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) 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

تهران - خیابان ولیعصر، ضلع جنوبی میدان ونک، پلاک ۱۲۹۴، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۳۹

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۱۰۳ و ۸۸۸۸۷۰۸۰

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: ۱۳۷۵ 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 1375 Rls.

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ج	آشنایی با موسسه استاندارد
د	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
و	پیش گفتار
۱	هدف ۱
۱	دامنه کاربرد ۲
۱	مراجع الزامی ۳
۲	اصطلاحات و تعاریف ۴
۲	اصول آزمون ۵
۲	مواد و/یا واکنشگرها ۶
۳	وسایل لازم ۷
۴	نمونه برداری ۸
۴	روش انجام آزمون ۹
۶	محاسبه ۱۰
۱۰	دقت ۱۱
۱۰	گزارش آزمون ۱۲
۱۱	پیوست الف (اطلاعاتی) نتایج آزمون بین آزمایشگاهی ۱۳

پیش‌گفتار

استاندارد " روغن زیتون - اندازه‌گیری مقدار استیرن‌ها در روغن‌های گیاهی تصفیه شده - روش آزمون " که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط تهیه و تدوین شده و در ششصد و هفتاد و پنجمین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده‌های 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 می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های 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.16/Rev.1: 2001, Method of analysis – Determination of sterenes in refined vegetable oils.

کمیسیون فنی تدوین استاندارد
"روغن زیتون - اندازه گیری مقدار استیرن ها در روغن های گیاهی تصفیه شده - روش
آزمون"

رئیس:

سمت و / یا نمایندگی

شرکت توسعه کشت دانه های روغنی (سهامی خاص)

صفافر، حامد

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

دبیر:

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

رشیدی، لادن

(فوق لیسانس مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی)

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفباء)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

امیرحسینی، شهرزاد

(لیسانس مهندسی کشاورزی گیاه پزشکی)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

عشرت آبادی، پروین

(دکترای تخصصی علوم و صنایع غذایی)

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

غفاری، فرحناز

(فوق لیسانس بهداشت در تغذیه)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

قلی پور، نوشین

(فوق لیسانس مهندسی شیمی - ترموسینتیک)

وزارت جهاد کشاورزی - دفتر طرح زیتون

کاوسی، پرویز

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

شرکت صنعتی بهشهر (سهامی عام)

کلانتری، فرانک
(فوق لیسانس مهندسی شیمی)

شرکت فرآیند ابزار روغن (سهامی خاص)

مالک، فرشته
(فوق لیسانس علوم و صنایع غذایی)

روغن زیتون – اندازه‌گیری مقدار استیرن‌ها در روغن‌های گیاهی تصفیه شده – روش آزمون

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین و ارائه روش اندازه‌گیری استیرن‌ها (کمپستادی‌ان‌ها، استیگماستادی‌ان‌ها) است.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد را می‌توان به منظور شناسایی روغن‌های استرول‌زدایی شده دانه‌های روغنی، در روغن زیتون تصفیه شده، روغن تفاله (باقی‌مانده) زیتون، و مخلوطی از این روغن‌ها با روغن زیتون طبیعی به کار برد. همچنین این روش را می‌توان برای سنجش مقدار استیگماستادی‌ان‌های موجود در روغن‌هایی به کار برد، که غلظت استیگماستادی‌ان‌ها در این روغن‌ها بیشتر از ۴/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است.

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 اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاح و تعریف زیر به کار می رود:

۱-۴

استیرن‌ها^۱

استیرن‌ها هیدروکربن‌هایی هستند که از استرول‌ها در طی عملیات تصفیه یا استرول‌زدایی به کار گرفته شده در روغن‌های گیاهی ایجاد می‌شوند.

۵ اصول آزمون

در ابتدا جزء هیدروکربنی استروئیدی، به وسیله ستون کروماتوگرافی، بر روی سیلیکاژل باردار از نیترات نقره جداسازی شده، سپس توسط ستون موئینه کروماتوگرافی گازی شناسایی می‌شود.

۶ مواد و/یا واکنشگرها

تنها از واکنشگرهایی با درجه خلوص شناخته شده استفاده کنید. آب مورد استفاده باید آب مقطر یا آبی با درجه خلوص معادل آن باشد، به منظور کنترل خلوص واکنشگرها، ارزیابی نمونه شاهد باید انجام شود.

۱-۶ هگزان یا مخلوطی از آلکان‌ها با نقطه جوش بین ۶۵ درجه سلسیوس تا ۷۰ درجه سلسیوس، تقطیر شده توسط ستون مستقیم (یک سو ساز)^۲

۲-۶ اتانول مطلق

۳-۶ مایع حامل برای ستون کروماتوگرافی، مخلوط هگزان یا آلکان‌ها (طبق بند ۱-۶) همراه با اتانول مطلق ۰/۲ درصد

۴-۶ نیترات نقره

۵-۶ سولفات سدیم بدون آب

۶-۶ سیلیکاژل ۶۰ برای ستون کروماتوگرافی، با اندازه ذرات ۷۰ مش تا ۲۳۰ مش

روش آماده‌سازی: سیلیکاژل را در آونی به دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت یا بیشتر حرارت دهید تا خشک شود، سپس آن را در دسیکاتور سرد کنید.

۷-۶ آماده سازی سیلیکاژل باردار شده با نقره، برای دو ستون

در یک بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری ته گرد (طبق بند ۲-۷)، ۳۰ گرم از سیلیکاژل فعال شده (طبق بند ۶-۶) را وزن کنید. سپس در یک ارلن مایر ۲۵ میلی‌لیتری (طبق بند ۳-۷)، ۳/۰ گرم از نیترات نقره را در ۷ میلی‌لیتر آب مقطر حل کنید و توسط پی‌پت، قطره قطره محلول را بر روی سیلیکاژل ریخته و گاهی آن را تکان دهید. درپوش بالن ته گرد را گذاشته و به مدت زمان ۲۰ ثانیه به شدت

1 - Sterenes

2 -Rectifying column

تکان دهید. بالن را در تبخیرکننده گردان قرار دهید تا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تحت فشار اتمسفر بچرخد. رنگ سیلیکاژل به خاکستری روشن تغییر می‌یابد، سپس آن را در بالن در بسته و در تاریکی نگهداری کنید.

۸-۶ محلول ذخیره کلستا-۵۳-دی‌ان (۲۰۰ ppm) در حلال هگزان (۱۰ میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر)

۹-۶ محلول استاندارد کلستا-۵۳-دی‌ان در حلال هگزان در غلظتی معادل ۲۰ ppm، که به وسیله رقیق‌سازی از محلول فوق (طبق بند ۸-۶) به دست می‌آید.

یادآوری- اگر محلول‌های به دست آمده از بندهای ۸-۶ و ۹-۶ در دمای زیر ۴ درجه سلسیوس نگهداری شوند، برای مدت زمان حداقل ۴ ماه قابل استفاده خواهند بود.

- ۱۰-۶ محلول نوناکوزان نرمال در حلال هگزان با غلظت تقریباً ۱۰۰ ppm
- ۱۱-۶ گاز حامل برای کروماتوگرافی: هلیوم یا هیدروژن با خلوصی معادل ۹۹/۹۹۹۰ درصد.
- ۱۲-۶ کازهای کمکی برای آشکارساز یونش شعله: هیدروژن با خلوص معادل ۹۹/۹۹۹۰ درصد و هوای خالص شده

۷ وسایل لازم

- ۱-۷ بالن‌های ته‌گرد ۱۰۰ میلی‌لیتری
- ۲-۷ بالن‌های ته‌گرد ۵۰۰ میلی‌لیتری
- ۳-۷ ارلن‌مایرهای ۲۵ میلی‌لیتری
- ۴-۷ دسیکاتور حاوی سیلیکاژل فعال شده
- ۵-۷ تبخیرکننده گردان
- ۶-۷ ستون کروماتوگرافی شیشه‌ای، (قطر داخلی ۱/۵ تا ۲/۰ سانتی‌متر و طول ۵۰ سانتی‌متر) با شیر تفلون و درپوشی از جنس پشم شیشه یا دیسک شیشه‌ای سینتره شده^۱ در قسمت تحتانی آن. به منظور آماده‌سازی ستون سیلیکاژل، ابتدا هگزان را در داخل ستون تا عمق تقریباً ۵ سانتی-متر ریخته، سپس توسط دوغابی از سیلیکاژل باردار شده با نیترات نقره (طبق بند ۴-۶) در حلال هگزان (۲۰ گرم در ۴۰ میلی‌لیتر) و با کمک مقداری از هگزان پر کنید.

اجازه دهید تا مواد داخل ستون ته نشین شوند و این رسوب‌گذاری را با به کارگیری لرزش‌های خفیف کامل کنید. سولفات سدیم بی‌آب را به ارتفاع تقریباً ۰/۵ سانتی‌متر، به ستون افزوده و در نهایت هگزان مازاد بر سطح سولفات سدیم اضافه شده را، از ستون خارج سازید.

۷-۷ دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز یونش شعله، تزریق‌کننده دو قسمتی (شکافت) (یا تزریق سرد به سر - ستون)^۱ و آون قابل برنامه‌ریزی دمایی با دقت ± 1 درجه سلسیوس.

۸-۷ ستون موئینه پر شده از سیلیکا برای دستگاه کروماتوگرافی گازی (قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و طول ۲۵ متر)، که توسط فاز ۵ درصدی - متیل فنیل سیلیکون پوشش داده شده با ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر.

یادآوری - ستون‌های مشابه دیگر یا ستون‌های با قطبیت کمتر را نیز می‌توان به کار برد.

۹-۷ ثبات - انتگرال گیر، با امکان انتگرال گیری مجزا-مجزا
۱۰-۷ میکروسرنج ۵ میکرولیتری تا ۱۰ میکرولیتری با سوزن آب‌بندی شده برای دستگاه کروماتوگرافی گازی

۸ 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 نمونه برداری را در بر نمی‌گیرد. از روش نمونه برداری ارائه شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۴۹۳ سال ۱۳۸۳ استفاده کنید.

۹ روش انجام آزمون

۱-۹ جداسازی جزء هیدروکربنی استروئیدی

۱-۹-۱ ابتدا 1 ± 0.1 گرم از نمونه روغن را در یک بشر ۱۰ میلی‌لیتری وزن کرده، سپس یک میلی‌لیتر محلول استاندارد کلستا-۳و۵- دی‌ان (۲۰ میکروگرم) را به آن بیافزائید، مخلوط را به کمک دو قسمت یک میلی‌لیتری از حلال هگزان، به ستون جداکننده منتقل کنید. نمونه را به وسیله مقدار محلولی که از بالا بر روی سولفات سدیم ریخته می‌شود، در داخل ستون به سمت پایین حرکت دهید.

۱-۹-۲ خارج سازی مایع خروجی (طبق بند ۶-۳) از ستون کروماتوگرافی را با سرعت جریان تقریبی یک میلی‌لیتر بر دقیقه آغاز کنید. ۴۰ میلی‌لیتر مایع خروجی اولیه (طبق بند ۶-۳) را دور

ریخته و سپس ۷۰ میلی لیتر بعدی را جمع آوری کنید و به طور جداگانه، ۲۰ میلی لیتر بعدی را نیز جمع آوری نمایید.

یادآوری ۱- بهینه سازی حجم های اولین و دومین جزء را می توان به وسیله آزمایش کروماتوگرام های گازی به دست آمده از هر جزء انجام داد. اولین جزء باید دارای هیدروکربن های اشباع شده و فاقد کلستادی ان باشد. دومین جزء باید هیدروکربن های استروئیدی را نشان داده ولی هیدروکربن های اشباع شده را نشان ندهد و سومین جزء باید فاقد استیرین ها باشد (شکل ۱).

یادآوری ۲- در پایان فرایند کروماتوگرافی، ستون باید خالی شود و سیلیکاژل باردار شده با نیترات نقره، در داخل یک ظرف ریخته شده و به منظور بازیافت مجدد نقره ذخیره شود.

۳-۱-۹ دومین جزء را به یک بالن ته گرد ۱۰۰ میلی لیتری (طبق بند ۷-۱) انتقال داده و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و تحت فشار کاهش یافته، در یک تبخیرکننده گردان تبخیر نمایید تا خشک شود و باقی مانده را سریعاً در ۰/۲ میلی لیتر از حلال هگزان حل نمایید. محلول را تا زمان انجام آزمون شناسایی در یخچال نگهداری کنید.

یادآوری - باقی مانده (طبق بند ۹-۱-۳) را نباید در دمای اتاق به صورت خشک نگهداری کرد. به محض آن که باقی مانده به دست آمد، باید حلال را به آن اضافه کرد و محلول ها را در یخچال نگهداری نمود.

۲-۹ کروماتوگرافی گازی

۱-۲-۹ شرایط کار با تزریق کننده دو قسمتی (شکافت)

۱-۱-۲-۹ دمای تزریق کننده: ۳۰۰ درجه سلسیوس

۲-۱-۲-۹ دمای آشکارساز: ۳۲۰ درجه سلسیوس

۳-۱-۲-۹ دماهای آون قابل برنامه ریزی: دمای اولیه ۲۳۵ درجه سلسیوس به مدت زمان ۶ دقیقه و سپس دما با سرعت ۲ درجه سلسیوس در دقیقه بالا رفته تا به دمای ۲۸۵ درجه سلسیوس برسد.

۴-۱-۲-۹ تزریق کننده دو قسمتی (شکافت) با تقسیم کننده جریان با نسبت ۱ به ۱۵ (۱:۱۵)

۵-۱-۲-۹ مقدار محلول تزریق شده ۲ میکرو لیتر

۶-۱-۲-۹ حساسیت: حدود ۱۶ برابر حداقل آستانه

۷-۱-۲-۹ گاز حامل: هلیوم یا هیدروژن در فشار، به ترتیب، حدود ۱۲۰ کیلو پاسکال و ۸۰ کیلو پاسکال
۸-۱-۲-۹ ثبات - انتگرال گیر، پارامترها برای انتگرال گیری باید ثابت شده باشند تا یک ارزیابی صحیحی را از سطح زیر پیک ها بدهند.

این شرایط باید مطابق با ویژگی کروماتوگراف و ستون تنظیم شده باشند تا مشاهده کروماتوگرام های به دست آمده با الزامات زیر انطباق داشته باشد: پیک استاندارد داخلی باید در مدت زمان

تقریبی ± 3 دقیقه از زمان داده شده در بند ۹-۲-۲ ظاهر شود، پیک استاندارد داخلی باید حداقل ۸۰ درصد مقیاس کل باشد.

سامانه کروماتوگرافی گازی باید به وسیله تزریق مخلوطی از محلول ذخیره کلستادیان (طبق بند ۶-۸) و محلول نوناکوزان نرمال (طبق بند ۶-۱۰) کنترل شود. پیک کلستا-۳و۵-دی ان باید به صورت یک پیک تفکیک شده قبل از پیک نوناکوزان نرمال (شکل ۲) ظاهر شود، اگر این پیک ظاهر نشد، می‌توان دو عمل را انجام داد، دمای آن را تغییر داد و/یا از یک ستون با قطبیت کمتر استفاده کرد. تحت این شرایط پیک‌های هیدروکربن‌های اشباع با پیک‌های استیرن (شکل ۲) تداخل ندارند.

۹-۲-۲ شناسایی پیک

با استفاده از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل، پیک استاندارد داخلی، تقریباً در زمان ۱۹ دقیقه و استیگماستا-۳و۵-دی ان در زمان بازداری نسبی تقریباً $1/28$ (شکل ۱-ب) ظاهر می‌شود. کمپستا-۳و۵-دی ان در زمان بازداری تقریباً $1/15$ نسبت به استاندارد و تقریباً $0/90$ نسبت به استیگماستا-۳و۵-دی ان ظاهر می‌شود.

با استفاده از گاز هیدروژن به عنوان گاز حامل، پیک استاندارد داخلی، تقریباً در زمان ۱۵ دقیقه و پیک استیگماستا-۳و۵-دی ان در زمان بازداری نسبی تقریباً $1/33$ ظاهر می‌شود. کمپستا-۳و۵-دی ان در زمان بازداری تقریباً $1/18$ نسبت به استاندارد و تقریباً $0/88$ نسبت به استیگماستا-۳و۵-دی ان ظاهر می‌شود.

کمپستا-۳و۵-دی ان و استیگماستا-۳و۵-دی ان با مقادیر کوچکی از ایزومرهای ۴و۲ مربوطه ایجاد می‌شوند. معمولاً این دو گروه از ترکیبات، با هم به صورت دو پیک کروماتوگرافی خارج می‌شوند. با این حال، اگر ستون بسیار قطبی باشد، یا قدرت تفکیک زیادی را نشان دهد، ایزومر ۴و۲ می‌تواند به صورت پیک کوچکی قبل و نزدیک به ایزومرهای ۳و۵ مربوطه (شکل ۳) ظاهر شود.

به منظور اطمینان از این که استیگماستادیان‌ها به صورت یک پیک جداگانه خارج شده‌اند، پیشنهاد می‌شود تا ستون را با ستون دیگری تعویض نمائید که قطبیت کمتر یا قطر داخلی بیشتری داشته باشد.

یادآوری- می‌توان مراجع کروماتوگراف گازی این هیدروکربن‌های استروئیدی را به وسیله تجزیه روغن-های پالم تصفیه شده یا روغن‌های آفتابگردان یا روغن آفتابگردان حرارت داده شده با مقدار ۱۰ درصد حجمی / وزنی از اسید سولفوریک: آب (۱:۱) به مدت زمان ۵ دقیقه در دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس به دست آورد.

۱۰ محاسبه

مقدار استیگماستادیان‌ها را از فرمول ۱ محاسبه کنید:

$$\text{مقدار استیگما استادی آن‌ها (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم)} = \frac{A_s \times M_c}{A_c \times M_o} \quad (1)$$

که در آن:

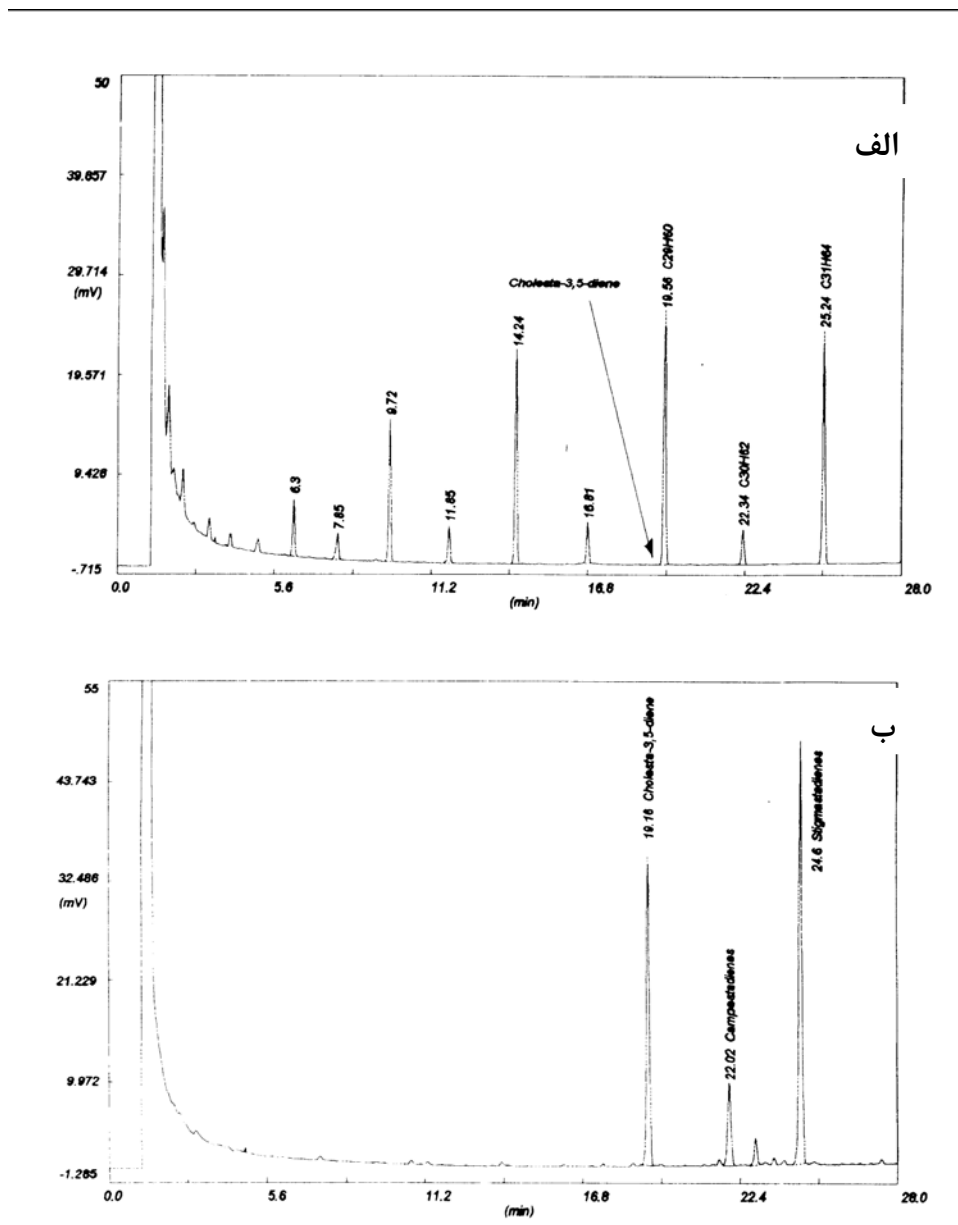
A_s	مساحت پیک مربوط به استیگما استادی آن‌ها
M_c	وزن استاندارد اضافه شده بر حسب میکروگرم
A_c	مساحت پیک استاندارد داخلی
M_o	وزن روغن برداشته شده بر حسب گرم

نسبت‌های بین هیدروکربن‌ها، از فرمول ۲ محاسبه می‌شوند:

$$R1 = \frac{\text{مساحت پیک استیگما استادی آن‌ها}}{\text{مساحت پیک کمپستادی آن‌ها}} \quad (2)$$

معمولاً هر جفت از ایزومرها یک پیک کروماتوگرافی جداگانه‌ای را به وجود می‌آورند، ولی اگر دو ایزومر، پیک‌های مجزایی را ایجاد کنند، مساحت هر دو پیک باید با هم جمع شوند. نسبت‌ها هنگامی معتبر هستند، که پیک‌های استیگما استادی آن، به حداقل ۵۰ درصد مقیاس کل برسد.

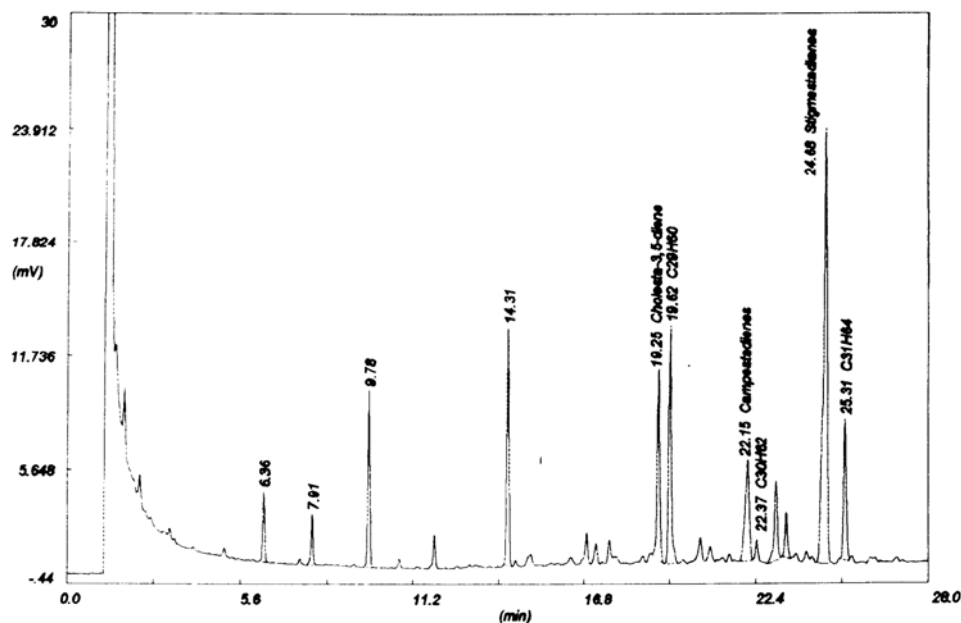
یادآوری - اگر مقدار استیگما استادی آن‌ها بیشتر از ۵۰ ppm باشد، تجزیه باید با استفاده از مقدار نمونه روغن کمتری تکرار شود تا تعیین مقدار، دقیق‌تر باشد.



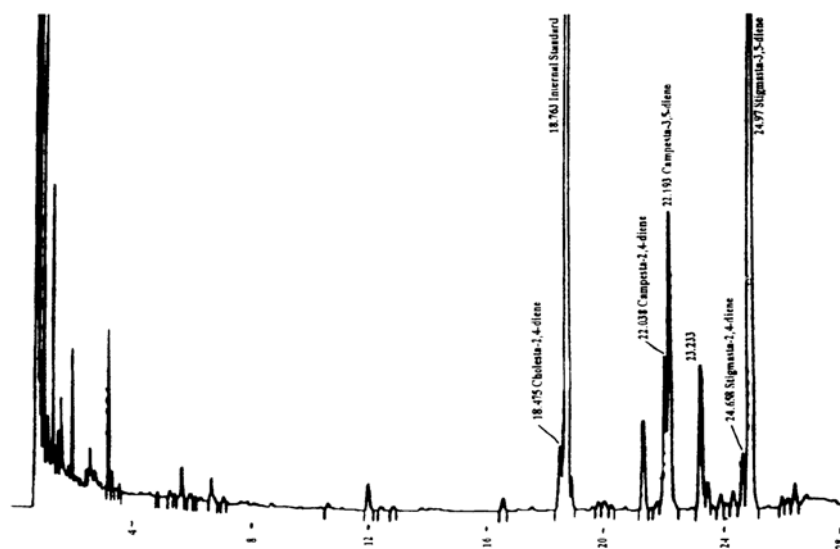
شکل ۱- نمودارهای کروماتوگرافی گازی اجزاء اول و دوم به دست آمده بر روی یک ستون موئینه (قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و طول ۲۵ متر) که با ۵ درصد از متیل فنیل سیلیکون (با ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر) پوشش داده شده و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شده است.

الف- جزء اول حاصل از یک نمونه روغن زیتون

ب- جزء دوم حاصل از یک نمونه روغن بادام زمینی



شکل ۲- نمودارهای کروماتوگرافی گازی جزء اول به علاوه جزء دوم به دست آمده از یک مخلوط روغن زیتون تصفیه شده و روغن آفتابگردان استرول زدایی شده بر روی یک ستون موئینه (قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و طول ۲۵ متر) که با ۵ درصد از متیل فنیل سیلیکون (با ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر) پوشش داده شده و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شده است.



شکل ۳- نمودار کروماتوگرافی گازی دومین جزء از نمونه روغن پالم به دست آمده بر روی یک ستون قطبی (متیل فنیل سیلیکون - ۶۵ درصد) نشان دهنده ایزومرهای استیرن.

۱۱ دقت

۱-۱۱ 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 آن ها که در پیوست الف داده شده است، کاربردی ندارد.

۲-۱۱ تکرارپذیری

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.

۳-۱۱ 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.

۱۲ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی‌های زیر باشد:

- ۱-۱۲ همه داده‌های ضروری، به منظور شناسایی کامل نمونه
- ۲-۱۲ روش نمونه‌گیری به کار برده شده، اگر شناخته شده باشد.
- ۳-۱۲ روش آزمون طبق استاندارد ملی ایران ۹۷۱۰ سال ۱۳۸۷
- ۴-۱۲ 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 اثرگذار باشد.
- ۵-۱۲ نتیجه آزمایش به دست آمده
- ۶-۱۲ اگر تکرار پذیری کنترل شده باشد، نتیجه نهایی بدست آمده گزارش شود.
- ۷-۱۲ نام و نام خانوادگی و امضاء آزمایش کننده
- ۸-۱۲ تاریخ انجام آزمون
- ۹-۱۲ 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. آزمایشگاه ها 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 اجرائی IOOC به طور آماری مطابق با استانداردهای بین المللی ایزو به شماره های ۱- ۵۷۲۵ و ۲- ۵۷۲۵ (استانداردهای ملی ایران به شماره های ۱- ۷۴۴۲ و ۲- ۷۴۴۲ تهیه شدند. نتایج خارج از محدوده به دست آمده با استفاده از آزمون های 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	-	۱۸	-	-	تعداد آزمایشگاه های شرکت کننده
۷	-	۵	-	-	تعداد آزمایشگاه های دارای نتایج خارج از محدوده
۱۵/۸۶	-	۱۹/۹۶	-	-	میانگین نتایج پذیرفته شده
۱/۲۵	-	۱/۶۷	-	-	حد تکرار پذیری $3(s_r \times 2/8)$
۰/۴۵	-	۰/۵۹	-	-	انحراف استاندارد تکرار پذیری (s_r)
۲/۸۴	-	۳/۰۰	-	-	ضریب تکرار پذیری متغییر، RDS_r % (مقدار میانگین $100/s_r$)
۳/۰۴	-	۴/۳۸	-	-	حد تجدید پذیری $R(s_r \times 2/8)$
۱/۰۸	-	۱/۵۶	-	-	انحراف استاندارد تجدید پذیری، s_R
۶/۸۶	-	۷/۸۵	-	-	ضریب تکرار پذیری متغییر، RDS_R % (مقدار میانگین $100/s_R$)

ICS: 67.200.10

صفحة : 11
