



جمهوری اسلامی ایران  
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۸۸۱۹

چاپ اول

**ISIRI**

**8819**

1st.edition

**چربی شیر – اندازه گیری ترکیب اسیدهای چرب با  
استفاده از روش کروماتوگرافی گازی – روش آزمون**

**Milk fat – Determiantion of the  
fatty acid composition by gas-liquid  
chromatography-Test method**

نشانی مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران : کرج - شهر صنعتی، صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵



دفتر مرکزی : تهران - ضلع جنوبی میدان ونک - صندوق پستی : ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵

تلفن مؤسسه در کرج: ۰۲۶۱-۲۸۰۶۰۳۱-۸



تلفن مؤسسه در تهران: ۰۲۱-۸۸۷۹۴۶۱-۵



دورنگار: کرج ۰۲۶۱-۲۸۰۸۱۱۴ - تهران ۰۲۱-۸۸۸۷۰۸۰-۸۸۸۷۱۰۳



بخش فروش - تلفن: ۰۲۶۱-۲۸۰۷۰۴۵ دورنگار: ۰۲۶۱-۲۸۰۷۰۴۵



پیام نگار: Standard @ isiri.or.ir



بهاء: ۲۰۰۰ ریال



**Headquarters :Institute Of Standards And Industrial Research Of IRAN**

**P.O.Box: 31585-163 Karaj – IRAN**

**Tel.(Karaj): 0098 (261) 2806031-8**

**Fax.(Karaj): 0098 (261) 2808114**

**Central Office : Southern corner of Vanak square , Tehran**

**P.O.Box: 14155-6139 Tehran - IRAN**

**Tel.(Tehran): 0098(21)8879461-5**

**Fax.(Tehran): 0098 (21) 8887080,8887103**

**Email: Standard @ isiri.or.ir**

**Price: 2000 "RLS**

## « بسمه تعالی »

### آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب قانون، تنها مرجع رسمی کشور است که عهده دار وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) میباشد.

تدوین استاندارد در رشته های مختلف توسط کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط با موضوع صورت میگیرد. سعی بر این است که استانداردهای ملی، در جهت مطلوبیت ها و مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فنی و فن آوری حاصل از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع شامل: تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، بازرگانان، مراکز علمی و تخصصی و نهادها و سازمانهای دولتی باشد. پیش نویس استانداردهای ملی جهت نظرخواهی برای مراجع ذینفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال میشود و پس از دریافت نظرات و پیشنهادات در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که توسط مؤسسات و سازمانهای علاقمند و ذیصلاح و با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می شود نیز پس از طرح و بررسی در کمیته ملی مربوط و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی چاپ و منتشر می گردد. بدین ترتیب استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد مندرج در استاندارد ملی شماره ((۵)) تدوین و در کمیته ملی مربوط که توسط مؤسسه تشکیل میگردد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد میباشد که در تدوین استانداردهای ملی ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندیهای خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی استفاده می نماید.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون به منظور حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردها را با تصویب شورای عالی استاندارد اجباری نماید. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آنرا اجباری نماید.

همچنین بمنظور اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی کنندگان سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاهها و کالیبره کنندگان وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد اینگونه سازمانها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران مورد ارزیابی قرار داده و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آنها اعطا نموده و بر عملکرد آنها نظارت می نماید. ترویج سیستم بین المللی یکاها، کالیبراسیون وسایل سنجش تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی از دیگر وظایف این مؤسسه می باشد.

## کمیسیون استاندارد "چربی شیر - اندازه‌گیری ترکیب اسیدهای چرب با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی- روش آزمون"

### رئیس

کامکار، ابوالفضل

دانشگاه تهران - دانشکده دامپزشکی

(دکترای دامپزشکی و متخصص بهداشت مواد غذایی)

### سمت یا نمایندگی

### اعضاء

پورایمان پرست، کاوه

شرکت صنایع شیر ایران (پگاه)

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

امجدی گلپایگانی، مهرنوش

شرکت صنایع شیر ایران (پگاه)

(لیسانس صنایع غذایی)

تاج کریمی، مهرداد

شرکت صنایع شیر ایران (پگاه)

(دکترای دامپزشکی و متخصص بهداشت مواد غذایی)

رشیدی، لادن

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

(فوق لیسانس مهندسی شیمی و بیوتکنولوژی)

غفاری، فرحناز

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

(فوق لیسانس علوم بهداشتی تغذیه)

یوسف زاده، هنگامه

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

(لیسانس صنایع غذایی)

### دبیر

برازندگان، خسرو

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

## فهرست اعضای شرکت کننده در ادامه پانصد و هفتاد و هشتمین اجلاسیه

کمیته ملی استاندارد فوراکی و فرآورده های غذایی مورخ ۸۵/۷/۳۰

### رئیس

مهدوی دامغانی، عبدالحمید  
(دکترای کشاورزی)

### سمت یا نمایندگی

دانشگاه شهید بهشتی

### اعضاء

برازندگان، خسرو  
(فوق لیسانس صنایع غذایی)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

سیداحمدیان، فریبا  
(لیسانس)

انستیتو تحقیقات تغذیه و علوم صنایع غذایی  
کشور

رضائیان، محمود  
(فوق لیسانس)

آزمایشگاه مواد غذایی، آرایشی و بهداشتی ماد

غفاری، فرحناز  
(فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه)

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

نوروزی، سعید  
(دکترای دامپزشکی)

کارشناس استاندارد

### دبیر

شریعتی، منیژه  
(لیسانس علوم تغذیه)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

## فهرست مندرجات

## صفحه

---

ب	پیش گفتار	
۱	هدف	۱
۱	دامنه کاربرد	۲
۱	مراجع الزامی	۳
۲	اصطلاحات و تعاریف	۴
۳	اساس روش	۵
۳	مواد لازم	۶
۴	وسایل لازم	۷
۷	ویژگی عملکرد	۸
۸	نمونه برداری	۹
۸	تهیه آزمایه و آزمون	۱۰
۸	روش کار	۱۱
۱۴	دقت	۱۲
۱۹	گزارش آزمون	۱۳

## پیش گفتار

استاندارد **چربی شیر - اندازه گیری ترکیب اسیدهای چرب با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی-روش آزمون** که توسط کمیسیون های مربوطه تهیه و تدوین شده و در پانصد و هفتاد و هشتمین جلسه کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده های کشاورزی مورخ ۸۵/۷/۳۰ مورد تصویب قرار گرفته ، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه 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 ، استاندارد های ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر گونه پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استاندارد ارائه شود در تجدید نظر بعدی مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین برای مراجعه به استاندارد های ملی ایران باید همواره از آخرین تجدید نظر آنها استفاده کرد.

در تهیه و تدوین این استاندارد سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه ، در حد امکان بین این استاندارد و استاندارد ملی کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود.

منبع و مأخذی که برای تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است:

ISO 15885, IDF 184: First edition ,2002-11-15, Milk fat – Determiantion of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography

## **”چربی شیر – اندازه گیری ترکیب اسیدهای چرب با استفاده از روش**

### **کروماتوگرافی گازی – روش آزمون“**

#### **۱ هدف**

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین روش برای اندازه گیری میزان اسیدهای چرب، چربی شیر و چربی حاصل در فرآورده های شیر می باشد.

#### **۲ دامنه کاربرد**

این روش برای کلیه فرآورده های شیری با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی- مایع کاربرد دارد.

یادآوری – منظور از فرآورده های شیری، فرآورده هایی است که آماده سازی متیل استر اسیدهای چرب آن مطابق استاندارد ملی ایران ۸۸۱۸ : سال ۱۳۸۵ انجام گیرد.

#### **۳ مراجع الزامی**

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد به آنها ارجاع داده شده است . بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد محسوب می شود . در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و/ یا تجدید نظر، اصلاحیه ها و تجدید نظرهای بعدی این مدارک مورد نظر نیست. معهدنابتهتر است کاربران ذینفع این استاندارد، امکان کاربرد آخرین اصلاحیه ها و تجدید نظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند. در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و/ یا تجدید نظر، آخرین چاپ و یا تجدید نظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده مورد نظر است .

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ایران ۸۸۱۸ : سال ۱۳۸۵” چربی شیر – آماده سازی متیل استر اسیدهای چرب – روش آزمون“



۲-۳ استاندارد ملی ایران ۱-۱۷۲۸ : سال ۱۳۸۱ ” آب مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه  
- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون“

۳-۳ استاندارد ملی ایران ۷۴۴۲ : سال ۱۳۸۰ ” درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج  
اندازه‌گیری‌ها قسمت اول: تعاریف و اصول کلی“

3-4 ISO 14156/IDF 172, Milk and milk products – Extraction methods for lipids and lipo soluble compounds.

## ۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات و / یا واژه‌ها با تعاریف زیر به کار می‌رود:

### ۱-۴ ترکیب اسیدهای چرب چربی شیر

عبارت است از جزء جرمی اسیدهای چرب اختصاصی شیر که توسط روش مشخص شده  
در این استاندارد ملی ایران تعیین شود.

یادآوری - ترکیب اسیدهای چرب چربی شیر (اسیدهای چرب آزاد هر یک بر حسب  
گرم) در ۱۰۰ گرم از اسیدهای چرب کل (اسیدهای چرب آزاد) که به عنوان درصد  
جزء جرمی بیان می‌شود.

### ۲-۴ آزمایه<sup>۱</sup>

عبارت است از نمونه ای است که طبق ضوابط نمونه برداری از نمونه آزمایشگاهی برای  
انجام آزمون برداشته می‌شود.

---

1- Free fatty acid  
2- Test sample

#### ۳-۴ آزمون<sup>۱</sup>

عبارت است از مقداری از آزمایه که برای انجام یک آزمون به طور وزنی یا حجمی برداشته و آماده می‌شود.

#### ۵ اساس روش

متیل استر اسیدهای چرب<sup>۲</sup> چربی شیر با استفاده از ترانس استریفیکاسیون تهیه گردیده و به وسیله کروماتوگرافی موئینه مایع - گاز<sup>۳</sup> جداسازی و تعیین شود و میزان متیل استرهای اسیدهای چرب اختصاصی با استفاده از ترکیب ویژه چربی شیر مرجع مشخص شود.

#### ۶ مواد لازم

فقط از واکنشگرهای با درجه تجزیه‌ای مناسب و از آب مقطر یا آب عاری از املاح و یا از آبی که دارای خلوص معادل با آن باشد، استفاده شود.

#### ۱-۶ متیل استر اسیدهای چرب مرجع<sup>۴</sup>

عبارت است از متیل استرهای اسیدچربی که دارای خلوص بیشتر از ۹۰ درصد باشد و حداقل حاوی متیل استرهای اسیدهای چرب اشباع، زوج کربن، زنجیره مستقیم با ۴ تا ۲۲ اتم کربن به همراه متیل استرهای پالمیتولئین (C<sub>16</sub>-۱) اسید اولئیک، لینولئیک و لینولنیک باشد.

---

1-Test portion

2- Fatty acid methyl ester

3- Capillary gas-Liquid chromatography

۴- مجموعه متیل استرهای اسیدچرب مرجع را می‌توان به صورت مخلوط آماده به شکل تجارتي یا به صورت مخلوط تهیه شده آزمایشگاهی از هر یک از مواد تهیه نمود.

#### ۲-۶ چربی شیر مرجع

از چربی شیر با ترکیب اسید چرب معین استفاده کنید:<sup>۱</sup>

#### ۳-۶ ملال چربی

آلکان‌های نرمال (برای مثال: n-پنتان، n، هگزان یا n-هپتان) موادی هستند که احتمال همپوشانی با پیک های اسید چرب را افزایش می دهند. و در ناحیه خاصی از کروماتوگرام ظاهر گردند.

یادآوری - از اتر سبک یا اتر نفت یا اتر دپترول با نقطه جوش ۶۰-۴۰ درجه سلسیوس نیز می توان به عنوان حلال چربی استفاده کرد.

#### ۴-۶ گاز حامل

شامل: هیدروژن، هلیوم یا نیتروژن با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد با محتوای اکسیژن کمتر از  $2 \times 10^{-6}$

۵-۶ از سایر گازها، عاری از ناخالصی‌های مواد آلی، محتوی هیدروکربن ( $C_nH_n$ ) کمتر از  $1 \times 10^{-6}$  از نیتروژن و هیدروژن با خلوص ۹۹/۹۹۵ درصد هوای ترکیبی استفاده کنید.

#### ۷ وسایل لازم

علاوه بر لوازم آزمایشگاهی معمول باید از لوازم زیر استفاده کرد.

۱-۷ دستگاه کروماتوگرافی گاز - مایع شامل:

#### ۱-۱-۷ سامانه تزریق کننده<sup>۲</sup>

---

۱- مواد مرجع از اداره کمیسیون اتحادیه اروپا، بروکسل مانند CRM، ۶۴ قابل دسترسی است.

دمای بخش تزریق کننده های نوع تبخیری (سیستم تزریق کننده جداساز یا سامانه تزریق کننده با قابلیت برنامه ریزی دمائی، PTV<sup>۱</sup>) جهت تزریق نمونه از تزریق کننده با قابلیت برنامه ریزی دمائی استفاده کنید.

دما باید بیشینه ۲۲۰ درجه سلسیوس باشد. در زمانی که از تزریق سرد سرستونی داخل ستون استفاده می شود درجه حرارت تزریق کننده چند درجه زیر درجه نقطه جوش حلال نگه داشته شود.

#### ۷-۱-۲ گرمانه ستون

بخشی از دستگاه با توانائی برنامه ریزی دمائی از درجه حرارت نزدیک به درجه حرارت محیط تا ۲۲۰ درجه سلسیوس باشد.

یادآوری ۱ - برای نگهداری و افزایش طول عمر ستون می توان از درجه حرارت های پایین تر نیز استفاده به عمل آورد.

#### ۷-۱-۳ ستون

ستونی موئینه از جنس سیلیکا یا از جنس شیشه با حفره باریک یا بزرگ، با طول مناسبی که دارای فاز ساکن با ضخامت مطلوب برای دستیابی به ویژگی ها مندرج در بند ۸ باشد.

یادآوری ۱- فازهای ثابت تجاری، شامل اسید نیتروترفتالیک (تغییر یافته<sup>۲</sup>) یا پلی اتیلن گلیکول اصلاح نشده<sup>۳</sup> یا سایر فازهای قطبی که برای این کار مناسب می باشند.

یادآوری ۲- فازهای ثابت می توانند با سایر فازهای قطبی که دارای قابلیت جداسازی مشابهی از متیل استر اسیدهای چرب باشند، جایگزین گردند.

#### ۷-۱-۴ آشکارساز از نوع FID<sup>۱</sup>

---

2- Programmed – Temperature vaporisation

3-Nitroterephthalic-acid-modified

4-Unmodified poly(ethyleneglycol)

با قابلیت به کارگیری دمائی تا ۲۰ درجه سلسیوس بالاتر از درجه حرارت نهائی گرمخانه ستون باشد.

**۷-۱-۵** کپسول حاوی گاز حامل، از نوع غیر قابل نفوذ به اکسیژن و قادر به حفظ فشار سرستون برای دستیابی به سرعت خطی گاز حامل با پایش‌های مناسب جریان به منظور ایجاد سرعت‌های جریان مطلوب .

یادآوری ۱ - در صورت استفاده از سامانه تزریق کننده جداساز تبخیری باید جریان

خروجی جدا کننده کنترل نمائید، به طوری که نسبت جداسازی از  $\frac{1}{50}$  به  $\frac{1}{100}$  برسد.

یادآوری ۲- مثال‌هایی از سرعت جریان عبارتند از : برای نیتروژن ثانیه / سانتی متر ۱۵-۲۵، برای هلیوم ثانیه / سانتی متر ۲۵-۳۵ و برای دمای اولیه گرمخانه ثانیه / سانتی متر ۳۵-۵۵.

### **۷-۲ سرنگ تزریق<sup>۲</sup>**

مدل دستی با حداکثر ظرفیت ۱۰ میکرولیتر یا تزریق کننده خودکار یادآوری - معمولاً سرنگ‌های ۱۰ میکرولیتری با درجه بندی ۰/۲ میکرولیتری بکار برده می‌شود، چنانچه درجه بندی یک‌دهم میکرولیتری مورد نیاز باشد، باید از سرنگ‌های ۵ میکرولیتری استفاده شود.

**۷-۳** سامانه داده‌ها، قادر به ارائه اطلاعات مورد نیاز در بندهای ۸، ۱۱ و ۱۲ باشد.

### **۸ ویژگی عملکرد**

---

1-Flame Ionized Detector  
2-Plumger-in-barrel

مخلوط آزمونی محتوی متیل بوتیرات<sup>۱</sup>، متیل استئارات<sup>۲</sup> و متیل اولئات<sup>۳</sup> با غلظت ۰/۱ mg/ml برای هر یک در حلال چربی تهیه کنید، (طبق بند ۶-۳) این مخلوط را با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی با همان شرایطی که برای نمونه های چربی شیر بکار گرفته شده است، جداسازی نمائید.

پیک هر نمونه باید بیشتر از  $\frac{3}{4}$  پیک محلول های استاندارد تزریق شده با بزرگنمایی پیک سامانه داده ها طبق (بند ۷-۳) باشد، باید حداکثر جداسازی ممکن متیل بوتیرات از پیک حلال و بزرگنمایی ۱/۵ برابر (بزرگنمایی خط پایه) مابین متیل استئارات و متیل اولئات بدست آید.

بزرگنمایی، R، را با استفاده از فرمول ۱ به شرح زیر محاسبه کنید:

$$R = 2 \times d / (W_1 + W_2) \quad \text{فرمول ۱:}$$

که در آن:

$d$  = برابر است با مقدار عددی فاصله بین حداکثر پیک متیل استئارات و اولئات (به ترتیب) در مقیاس میلی متر

$W_1$  = برابر است با مقدار عددی پهنای پیک متیل استئارات، که از بین محل تقاطع خطوط مماس در نقاط پیک با خط پایه (بر حسب میلی متر) اندازه گیری می شود.

$W_2$  = برابر است با مقدار عددی پهنای پیک متیل اولئات، که از بین محل تقاطع خطوط مماس بر نقاط پیک با خط پایه، بر حسب میلی متر، اندازه گیری می شود.

## ۹ نمونه برداری

آزمایشگاه باید نمونه ای را دریافت کند که نماینده واقعی محصول باشد و در طی حمل و انبارش خراب نشده و یا تغییر نیافته باشد. روش نمونه برداری باید مطابق استاندارد ملی ایران: ۳۲۶: سال ۱۳۸۰، انجام گیرد.

---

1- Methyl butyrate  
2- Methyl stearate  
3- Methyl oleate

## ۱۰ تهیه آزمایه و آزمون

برای تهیه آزمایه‌های چربی شیر به استاندارد ملی ایران: ... و استاندارد ایزو ۱۴۱۵۶ و IDF ۱۷۲ مراجعه کنید.

## ۱۱ روش کار

### ۱-۱۱ شرایط عملیاتی

شرایطی را انتخاب نمایید که مشخصات از قبیل طول ستون و قطر داخلی آن، ضخامت لایه فاز ثابت، درجه حرارت اولیه آن، قابلیت برنامه ریزی دمائی، دمای نهائی آن و سرعت جریان گاز حامل را برآورد کنید.

### ۲-۱۱ تزریق نمونه

به طور کلی، دستورالعمل سازنده دستگاه را برای تزریق بکار ببرید.

### ۱-۲-۱۱ روش گرم

در صورت احتمال تبخیر از ناحیه تقسیم تزریق<sup>۱</sup> (انشعابی)، ۰/۵ تا ۱/۵ میکرولیتر از آزمون را بوسیله میکروسرنج بکشید. سوزن را در محل تزریق گرم شده قرار دهید و بعد از مدت زمان ۳ تا ۵ ثانیه تأمل به سرعت پیستون را رها کنید. سپس سوزن سرنج را از محل تزریق خارج نمایید.

### ۲-۲-۱۱ روش سرد

آزمون را با یک حلال چربی، طبق (بند ۶-۳) رقیق نمایید، سپس آزمایه طبق (بند ۱۰) آماده شده در درجه حرارت گرمخانه یا چند درجه زیر نقطه جوش حلال مورد استفاده را تزریق کنید.

یادآوری - برای رقیق نمودن می‌توان برای مثال: از نسبت ۱ به ۱۰ استفاده کرد.

### ۳-۱۱ تمیزیه کیفی<sup>۱</sup>

متیل استرهای اسیدهای چرب مرجع را تحت همان شرایط کاری که برای آزمون بکار می‌رود، تجزیه نمائید. زمان‌های بازداری<sup>۲</sup> برای مواد مرجع را ثبت کنید.

یادآوری ۱ - استرها به ترتیب افزایش تعداد اتم‌های کربن و ترتیب افزایش تعداد پیوندهای دوگانه به ازای تعداد اتم‌های کربن مشخص (n) از ستون خارج می‌شوند. (برای مثال متیل پالمیتات قبل از متیل استئارات خارج می‌شود)

یادآوری ۲- متیل استرهای اسید چرب<sup>۳</sup> دارای ۱۸ اتم کربن به ترتیب متیل استئارات، متیل اولئات، متیل لینولئات و متیل لینولئات از ستون خارج می‌شوند.

یادآوری ۳- متیل استرهای اسید چرب دارای زنجیره منشعب بعد از استرهای با زنجیره مستقیم دارای همان تعداد اتم‌های کربن از ستون خارج می‌شوند، به این ترتیب متیل استرهای دارای انشعاب ایزو (۲-n متیل استر) قبل از متیل استرهای دارای انشعاب آنتی ایزو (۳-n متیل استر) از ستون خارج می‌شوند.

یادآوری ۴- کروماتوگرام نشان داده شده در شکل یک، راهنمایی برای شناسایی آزمایش متیل استرهای اسید چرب چربی شیر می‌باشد. پیک‌های نمونه مورد آزمون را به وسیله مقایسه داده‌های زمان بازداری به دست آمده از مخلوط مرجع و کروماتوگرام نشان داده شده در شکل یک شناسایی کنید.

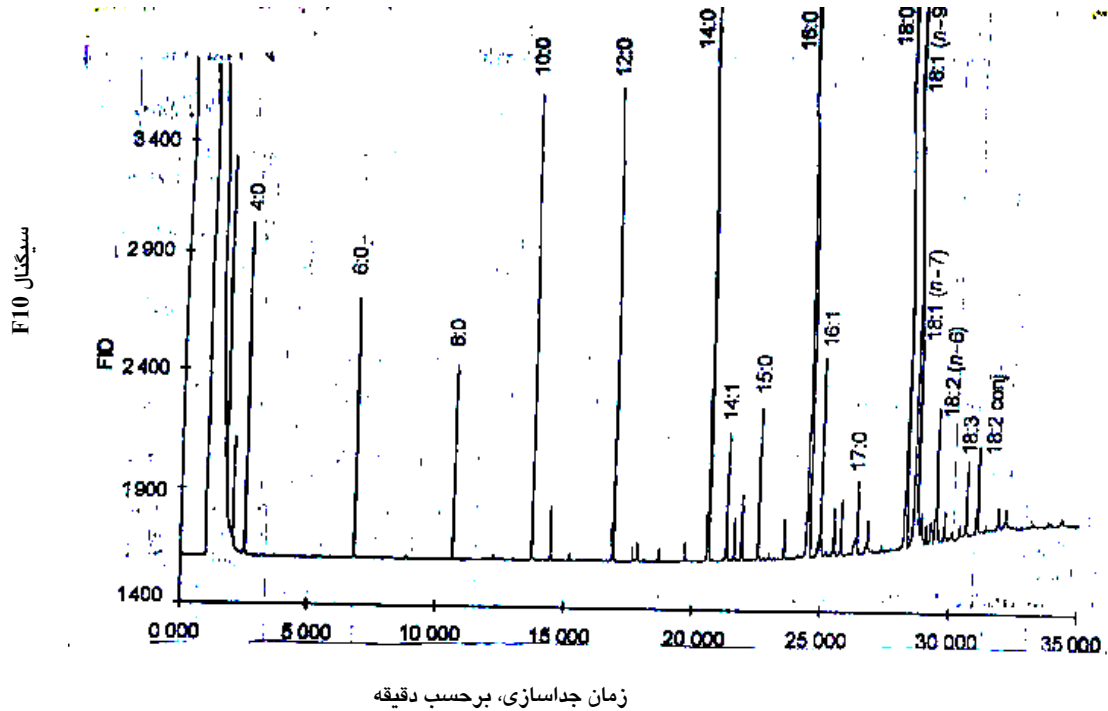
---

1- Qualitative analysis

2- Retention time

3- EAME(fatty acid methylester)





### شکل ۱- جداسازی متیل استرهاى اسید چرب چربى شیر بوسیله GLC را نشان می‌دهد.

شرایط عملیات:

- ابعاد ستون: قطر داخلی ۰/۳۲ میلی متر، طول ۳۰ متر ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر
- فاز ثابت: J & WDBWAX
- گاز حامل: هیدروژن
- فشار سرستون: ۰/۴ بار
- غلظت نمونه: ۲ میلی گرم در میلی لیتر حل شده در هگزان
- نوع تزریق کننده: دستی
- نوع تزریق: انشعابی
- حجم تزریق: ۱ میکرولیتر
- نسبت انشعاب ۱ به ۲۵ در ۴۰ درجه سلسیوس
- درجه حرارت تزریق: ۲۳۵ درجه سلسیوس
- درجه حرارت شناساگر: ۲۵۰ درجه سلسیوس

## ۴-۱۱ بیان نتایج

### ۱-۴-۱۱ تمزیه کمی<sup>۱</sup>

#### ۱-۴-۱۱ کلیات

۱-۱-۴-۱۱ چربی شیر مرجع، طبق (بند ۶-۲) همان گونه که در بند ۱۰ شرح داده شده است را کاملاً متیله<sup>۲</sup> نمائید. مخلوط متیل استرهای اسیدهای چرب بدست آمده را تحت همان شرایطی که برای آزمون بکار گرفته شد، تجزیه نمائید. کار و ثبت کروماتوگرام را بعد از خروج کامل اسید دوکوزانوئیک (O : C<sub>22</sub>) به پایان برسانید.

۲-۱-۴-۱۱ از روش نرمال سازی<sup>۳</sup> برای تخمین درصد هر جزء نشان داده شده توسط یک پیک در کروماتوگرام استفاده نمائید. فرض بر این است که همه اجزاء موجود در نمونه در کروماتوگرام نشان داده شده‌اند. در این حالت مجموع سطوح زیر پیک‌های مربوطه ۱۰۰ درصد مواد متشکله نمونه را نشان می‌دهد. (میزان خروجی از ستون ۱۰۰ درصد)

۳-۱-۴-۱۱ سطوح پیک‌های مربوط به متیل استرهای اسید چرب را تعیین نمائید. به عنوان مثال: تمام پیکهای کروماتوگرام به جز پیک حلال، پیک‌های مربوط به افزودن عامل‌های پایدار کننده و آن‌هایی که در تزریق‌های بدون شاهد ظاهر می‌شوند.

#### ۲-۴-۱۱ روش مناسبه سطح پیک

درصد سطح پیک  $P_{\theta i}$ : از کل سطح پیک که به وسیله پیک ترکیب (جزء)  $i$  نشان داده شده را با استفاده از فرمول ۲ محاسبه کنید:

$$P_{\theta i} = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100 \quad \text{فرمول ۲:}$$

$A_i$  = عبارت است از مقدار عددی سطح پیک که نمایانگر ترکیب  $i$

---

1- Quantitative analysis  
2- Trans methylate  
3- Normalization

$\sum A_i$  = عبارت است از مقدار عددی مجموع کل سطوح پیک که نمایانگر ترکیب متیل استرهای اسید چرب

### ۱۱-۴-۳ روش مناسبه فاکتور تصحیح

۱۱-۴-۳-۱ به منظور تعیین مقدار فاکتورهای تصحیح،  $f_i$ ، که برای تبدیل درصدهای سطح پیک به اجزاء جرمی موجود در یک صدم درصد ترکیبات بکار گرفته می‌شود، جزء جرمی معین،  $W_i$ ، ترکیب  $I$  در چربی شیر مرجع به درصد سطح پیک مشابه در کروماتوگرام چربی شیر مرجع تقسیم می‌شود.

۱۱-۴-۳-۲ فاکتورهای تصحیح  $f_i$  را با استفاده از فرمول ۳ محاسبه و تعیین نمائید.

$$f_i = \frac{W_i}{A_i} = \frac{W_i \times \sum A_i}{\sum W_i \times A_i} \quad \text{فرمول ۳:}$$

$W_i$  = برابر است با میزان جزء جرمی  $I$  در چربی شیر مرجع، طبق (بند ۶-۲) که به عنوان اسید چرب آزاد بیان شده است.  
 $\sum W_i$  = برابر است با مجموع میزان اجزاء جرمی ترکیبات مختلف در چربی شیر مرجع، طبق (بند ۶-۲) که به عنوان اسید چرب آزاد بیان شده است.

### ۱۱-۴-۳-۳ استانداردسازی فاکتور تصحیح

با استفاده از فرمول ۴ هر یک از مقادیر ویژه فاکتور تصحیح را با توجه به فاکتور تصحیح متیل پالمیتات استاندارد کنید، تا فاکتور تصحیح نسبی جزء  $I$  ( $f_i$ ) بدست آید.

$$f'_i = \frac{f_i}{f_p} \quad \text{فرمول ۴:}$$

که در این فرمول:

$f_p$  = برابر است با عدد فاکتور تصحیح متیل پالمیتات ( $f'_i$ ) برای متیل پالمیتات برابر با یک است).

#### ۱۱-۴-۴ روش مناسبه آزمون

آزمونه كاملا متيله شده را تزریق کنید، طبق (بند ۱۰) و سطح زیر پیک آن را همان گونه (طبق بند ۱۱-۴-۲) شرح داده شده، تعیین نمائید.

میزان جزء جرمی هر یک از اجزاء ویژه  $i$  را در نمونه مورد آزمون ( $w_i, S$ ) با استفاده از فرمول ۵ زیر محاسبه کنید:

$$w_i, S = \frac{f_i \times PA_{i,S}}{\sum (f_i \times PA_{i,S})} \times 100 \quad \text{فرمول ۵:}$$

که در این فرمول:

$w_i, S$  = برابر است با درصد جزء جرمی ترکیب ویژه  $i$  در نمونه مورد آزمون به عنوان گرم اسیدهای چرب آزاد در ۱۰۰ گرم از مجموع اسیدهای چرب مشخص می شود.

$PA_{i,S}$  = برابر است با درصد سطح زیر پیک مرتبط با جزء  $i$  در نمونه مورد آزمون با استفاده از عدد تصحیح،  $f_i$ ، اجزاء نامعین نمونه (ناشناخته‌ها) را در گزارش نهائی برای محاسبات از عدد یک منظور کنید.

یادآوری - نتایج را با دو رقم اعشار بیان کنید.

#### ۱۲ دقت

##### ۱۲-۱ آزمون بین آزمایشگاهی

میزان محدودیت‌های تکرارپذیری و تجدید پذیری، آماده سازی متیل استرها طبق استاندارد ملی ایران ...<sup>۱</sup> تعیین نمایند. این مقادیر از نتایج یک آزمون بین آزمایشگاهی که طبق استاندارد ملی ایران ۱-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۰ "درستی و صحت و دقت، روش‌ها و نتایج اندازه گیری‌ها - قسمت اول: تعاریف و اصول کلی"، بدست آمده است.

۱- تا تدوین استاندارد ملی ایران مربوط طبق استاندارد بین المللی ایزو ۱۵۸۸۳ معادل IDF، ۱۸۲ عمل نمایند.

### ۲-۱۲ تکرارپذیری

تفاوت نسبی میان دو نتیجه آزمون منفرد مستقل، که با استفاده از یک روش بر مواد آزمون مشابه در یک آزمایشگاه توسط یک آزمون کننده با استفاده از همان تجهیزات در یک فاصله زمانی کوتاه بدست می‌آید، در ۵ درصد از موارد نباید بیشتر از مقادیر بیان شده طبق (بندهای ۱-۲-۳ الی ۲-۲-۳) باشد:

۱-۲-۱۲ برای هر یک از اسیدهای چربی که در بیشتر از ۵ گرم از ۱۰۰ گرم اسیدهای چرب کل موجود در نمونه می‌باشند. ۵ درصد با حداکثر ۱ گرم در ۱۰۰ گرم

۲-۲-۱۲ برای هر یک از اسیدهای چربی که در مقادیر ۱ گرم تا ۵ گرم اسید چرب کل موجود در نمونه می‌باشند ۱۲٪، با حداکثر ۰/۵ گرم در ۱۰۰ گرم

### ۳-۱۲ تجدیدپذیری

تفاوت نسبی میان دو نتیجه آزمون منفرد، که با استفاده از یک روش بر مواد آزمون مشابه در آزمایشگاه‌های مختلف توسط آزمون کننده‌های مختلف با استفاده از تجهیزات متفاوت. بدست می‌آید، در ۵٪ از موارد نباید بیشتر از مقادیر بیان شده طبق (بندهای ۱-۳-۱۲ الی ۲-۳-۱۲) باشد:

۱-۳-۱۲ برای هر یک از اسیدهای چربی که بیشتر از ۵ گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب کل موجود در نمونه می‌باشند: ۱۵٪، با حداکثر ۴ گرم در ۱۰۰ گرم

۲-۳-۱۲ برای هر یک از اسیدهای چربی که در مقادیر ۱ گرم تا ۵ گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب کل موجود می‌باشند: ۲۰٪، با حداکثر ۱ گرم در ۱۰۰ گرم

### ۱۳ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی‌های زیر باشد:

۱-۱۳ همه اطلاعات لازم برای شناسایی کامل نمونه

۲-۱۳ روش نمونه برداری استفاده شده.

**۳-۱۳** روش آزمون طبق این استاندارد ملی ایران ۸۸۱۹ : سال ۱۳۸۵

**۴-۱۳** همهٔ جزئیات عملیاتی که در این استاندارد ملی مشخص نشده است، یا اختیاری در نظر گرفته شده است، همراه با جزئیات هر رویدادی که ممکن است بر نتایج آزمون تأثیر گذاشته باشد.

**۵-۱۳** نتایج آزمون‌های بدست آمده و یا قابلیت تکرار پذیری کنترل شود تا نتیجه تکرار نهائی حاصل گردد.

**۶-۱۳** تاریخ انجام آزمون

**۷-۱۳** نام و نام خانوادگی و امضای آزمایش کننده

---

---

**ICS: 67.100.10**

**صفحة : ١٦**

---

---