

SAMENVATTING TEN BEHOEVE VAN VERGADERING

Afdeling Akkerbouw 1982-03-18

Verslag 82.42 (verkort) Pr.nr 505.3010

Onderwerp: Referentiemateriaal voor de
bepaling van de vetzuursamen-
stelling van melkvet.

Verzendlijst: directeur, direktie VKA, sektorhoofd (3x), afdeling
Akkerbouw (4x), afd. Normalisatie (Humme), projekt
beheer, Projektleider (Muuse), Oortwijn, De Ruig, VKA,
NIZO (2x) t.a.v. dhr Badings.

Verg

SAMENVATTING TEN BEHOEVE VAN VERGADERING

Afdeling Akkerbouw

Datum: 1981-03-18

Pr.nr. 505.3010

VERSLAG 82.42 (verkort)

Project: Ontwikkeling en verbetering van onderzoekmethoden voor het bepalen van de vetzuur- en sterolsamenstelling van landbouw- en visserijprodukten.

Onderwerp: Referentiemateriaal voor de bepaling van de vetzuursamenstelling van melkvet.

Doel:

Vaststellen van de vetzuursamenstelling van een monster botervet om te komen tot een in Nederland geaccepteerd referentiemonster.

Samenvatting:

De samenstelling van enkele synthetische mengsels van triglyceriden werd berekend. De triglyceriden werden tevoren afzonderlijk gecontroleerd op zuiverheid aan de hand van correctiefactoren en gaschromatografische analyses. Met behulp van de triglyceride-mengsels werd de verzuursamenstelling van een monster botervet vastgesteld. Dit resultaat werd vergeleken met de NIZO-uitkomst.

Conclusie:

Voor bepaling van de vetzuursamenstelling van botervet aan de hand van synthetische triglyceride standaarden is het nodig eerst de zuiverheid van de triglyceriden te toetsen.

Eventuele fouten bij injecteren dienen onder controle gebracht te worden. Silar 9 CP bleek een goede fase te zijn bij gebruik van gepakte kolommen. Het gehalte aan oliezuur is dan echter te hoog door overlap van vetzuren. Alleen met capillair GC was oliezuur te scheiden van andere vetzuren. Het boterzuurgehalte in het referentiemonster ligt met 95% zekerheid tussen 3,46 en 4,00.

Verantwoordelijk: drs B.G. Muuse 

Medewerker/Samensteller: H.J. van der Kamp 

Projectleider: drs B.G. Muuse

1. Inleiding:

Op 13 mei 1981 vond een bijeenkomst plaats van deelnemers aan het ringonderzoek vetzuursamenstelling botervet.

Dit ringonderzoek wordt al jaren door het RIKILT (voorheen RZS) verzorgd om zodoende het niveau van deze analyse ten behoeve van het Rijkstoezicht te begeleiden.

Op de bijeenkomst van 13 mei kwam het volgende naar voren:

1. Tussen de onderzoeksinstituten bestaat tot nu toe een groot verschil in niveau wat de analyse van de lagere vetzuren betreft (intern verslag 81.29).
2. Er is een grote behoefte aan een referentiemonster botervet waar de absolute samenstelling van vastgesteld is aan de hand van synthetische mengsels van triglyceriden.
3. Om de "absolute" samenstelling van het referentie BV te bepalen, zullen het NIZO en het RIKILT een onderzoek starten.

Na dit onderzoek zullen de resultaten ter beoordeling aan de Nederlandse Zuivelwerkgroep worden voorgelegd.

2. Apparatuur:

1 Varian 3700.

2 kolommen: 15% silar 9 CP op chrom. WAW 100-120 mesh,
lengte 3 m, ID 3 mm.

1 Varian 3700:

Kolommen: 15% silar 5 CP op chrom. WAW 100-120 mesh,
lengte 3 m ID 3 mm
15% OV 275 op chrom P
Lengte 6 m ID 3 mm

1 Varian 3700 capillair

Kolom: CP Sil 5
Lengte 40 m ID 0,23 mm.

Gebruikelijk laboratoriumglaswerk.

3. Reagentia.

Alle reagentia en oplosmiddelen zijn van analysekwaliteit.

3.1.1 Methanol

3.1.2 Kaliumhydroxideoplossing in methanol (2 N)

3.2 Kaliumhydroxide

3.3 Hexaan

3.4 Natriumbisulfaat

3.5 Zuivere triglyceriden (Fluka) en methylesters (Chrompack) van de volgende vetzuren:

C4:0 boterzuur	C10:0 caprinezuur	C16:0 palmitinezuur
C6:0 capronzuur	C12:0 laurinezuur	C18:0 stearinezuur
C8:0 caprylzuur	C14:0 myristinezuur	C18:1 oliezuur.

De zuiverheid van de triglyceriden werd opgegeven als > 99%
(gaschromatografisch) en van de methylesters als 99+%.

4. Methoden.

4.1 Methylesterbereiding: conform NEN 6302: Bereiding van methylesters voor gaschromatografie en infraroodspectrofotometrie, methode 5 (methanolische KOH).

De methode werd op enkele punten aangepast voor het werken met een automaat en staat hieronder in het kort beschreven:

Maak een oplossing die ongeveer 10 mg triglyceriden per ml oplosmiddel bevat. Breng ca. 5 ml van deze oplossing in een buis van ca. 10 ml met stop. Voeg 100 μ l kaliumhydroxideoplossing (3.1.2) toe en schud gedurende 20 seconden. Voeg ca. 0,5 gram natriumbisulfaat toe en schud wederom gedurende 30 seconden. Laat de oplossing een paar minuten staan. De oplossing is te gebruiken voor het injekteren op een G.C. Deze oplossing blijft enkele dagen bruikbaar mits de buis gesloten bewaard wordt (zie intern verslag 80.48).

4.2 Analyse van de methylesters: volgens NEN 6334:

"Gaschromatografische analyse van methylesters van vetzuren".

Opmerking:

- a. In NEN 6334 wordt het gehalte van elke component weergegeven door het gekorrigeerde percentage (m/m) van component i uitgedrukt in methylesters, terwijl wij dit uitdrukken in vetzuren.
- b. Gebruik van correctiefactoren. Correctiefactoren worden gebruikt om de percentages van de piekoppervlakken om te zetten in massapercentages van de componenten.

5. Onderzoek

5.1 Zuiverheid van de standaarden

Voor het onderzoek werd de zuiverheid van de triglyceriden en methylesters grondig onderzocht.

De vetzuursamenstelling werd met diverse GLC kolomtypen bepaald (Silar 5 CP, Silar 9 CP, OV 275 en capillair GC CP Sil 5).

Charges van myristine- en stearinezure methylesters en van tripalmitine voldeden niet aan de door de fabrikant opgegeven gaschromatografische zuiverheid. Daarna werden mengsels gemaakt van deze triglyceriden resp. methylesters en werd door relateren van de korrektiefactoren nagegaan of er afwijkingen van het te verwachten patroon te zien waren (zie grafiek). Niet voldeden bij deze test charges van palmitinezure methylester en trioleïne. Deze werden vervangen door charges die wél zuiver werden bevonden. De vetzuursamenstelling van deze zuiver bevonden standaarden staat vermeld in tabel I en II.

Tabel I. Vetzuursamenstelling van de methylesters (gaschromatografische zuiverheid)

	C 4:0	C 6:0	C 8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	Rest.
C 4:0	99,99									-
C 6:0		99,90								-
C 8:0			99,84		0,12					0,04
C10:0				99,80						0,20
C12:0				0,10	99,00	0,82				0,08
C14:0					0,70	98,90	0,23			0,17
C16:0						0,05	99,40	0,41		0,04
C18:0						0,05	1,85	96,76		1,34
C18:1							0,18	0,05	99,56	0,21

Tabel II. Vetzuursamenstelling van de triglyceriden (gaschromatografische zuiverheid)

	C 4:0	C 6:0	C 8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	Rest.
C 4:0	99,80									0,20
C 6:0		99,99								-
C 8:0			99,99							-
C10:0				99,99						-
C12:0					99,90		0,03			0,06
C14:0						99,99				-
C16:0						0,38	97,30	0,92		1,40
C18:0							0,07	99,47		0,46
C18:1*							0,20	0,08	98,84	0,88
C18:1*							0,03		99,60	0,37

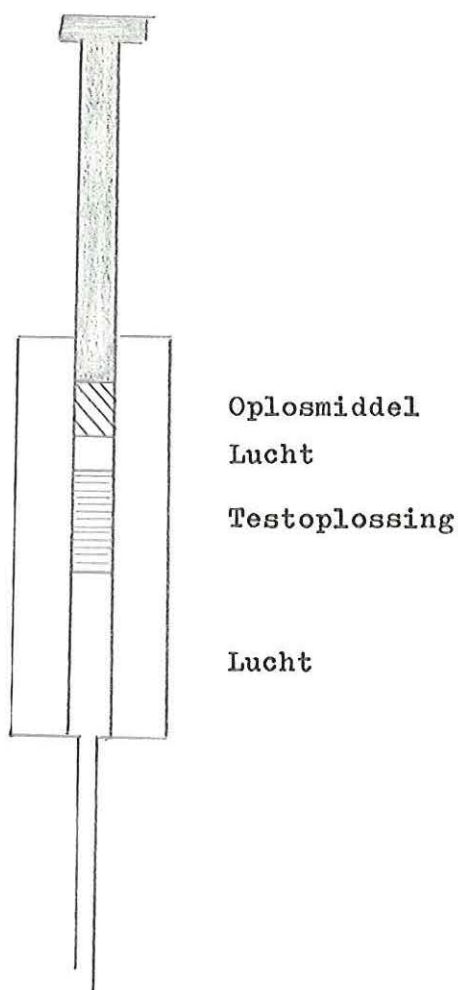
* Van trioleïne zijn 2 verschillende charges onderzocht.
De eerste charge werd verworpen.

5.2 Vanwege een publikatie door het NIZO 1) over selectieve verdamping bij injectie werd de wijze van injecteren getest. Bij handinjectie bleek een "sandwich" injectietechniek nodig te zijn (figuur 1). Bij gebruik van het automatisch injectiesysteem konden geen invloeden van selektieve verdamping worden waargenomen.

In het onderzoek werden beide technieken toegepast. Overigens met identieke resultaten.

5.3 Onderzoek naar eventuele verdamping van lagere vetzuren na methyleren leverde geen aanwijsbare verliezen op voor het gebruikte systeem. Voor het aantonen hiervan werden identieke monsters met verschillende tussenpozen tussen methyleren en injecteren en na open en dicht bewaren gedurende enkele uren en na herinjecteren, geanalyseerd.

1) Short Communication 10291 in J. of HRC and CC van Badings e.a.



5.4 Vaststelling korrektiefactoren

Met de triglyceride standaarden werden de korrektiefactoren bepaald ten opzichte van palmitinezuur. Daartoe werden TG standaarden III en IV ingewogen in een verhouding vergelijkbaar met een botervetzuur-samenstelling en met behulp van de zuiverheden werd de exacte samenstelling berekend.

5.5 De samenstelling van het referentie botervetmonster, dat ook in de parallel lopende ringtest is gebruikt door de deelnemers, werd bepaald met de gevonden korrektiefactoren.

In totaal werd het monster 45 maal geanalyseerd in week 45, 47 en 52 1981 naast evenzoveel metingen van de korrektiefactoren.

5.6 De gemiddelde samenstelling en variatie daarbij werd berekend en opgenomen in tabel VI.

5.7 Vergelijking van de resultaten NIZO-RIKILT gaf een verschil te zien in het oliezuurgehalte. Capillair GC gaf te zien dat bij gepakte kolommen onder de oliezuurpiek meerdere componenten zitten. Het 18:1 gehalte werd hiervoor gecorrigeerd.

6. Conclusie

De standaarden hebben zeker niet altijd de opgegeven zuiverheid van > 99% gaschromatografisch. Het injekteren dient tevoren getest te worden op selektiviteit.

Silar 9 CP bleek een goed bruikbare fase voor gepakte kolommen.

Oliezuur wordt dan echter onvoldoende gescheiden van isomeren en nevencomponenten.

De samenstelling van het referentiemonster geeft voor boterzuur een 95% zekere samenstelling tussen 3,46 en 4,00.

Tabel VI.

(VI.1) Gemiddelde uitslagen referentiemonster botervet

Kolom:	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A		
Week :	47	47	47	48	48	48	48	52	52	52		
aantal anal.:	5	6	3	5	5	5	5	4	3	4		
Injektie methode	Sandw.	Sandw.	AIS	AIS	AIS	AIS	AIS	Sandw.	Sandw.	AIS	Totaal gemid.	Relatieve stand.afw.
C 4:0	3,57	3,59	3,59	3,84	3,83	3,76	3,62	3,84	3,90	3,81	3,73	
C 6:0	2,00	2,02	2,01	2,09	2,16	2,07	2,08	2,10	2,13	2,08	2,07	
C 8:0	1,22	1,23	1,22	1,24	1,25	1,24	1,23	1,24	1,26	1,24	1,24	
C10:0	2,57	2,61	2,59	2,60	2,62	2,61	2,60	2,61	2,64	2,62	2,61	
C12:0	3,22	3,25	3,24	3,24	3,24	3,24	3,23	3,19	3,27	3,20	3,23	
C14:0	9,82	9,97	9,94	9,91	9,94	9,93	9,96	9,90	9,98	9,90	9,92	
C16:0	23,46	23,77	23,62	23,68	23,54	23,70	23,66	23,49	23,54	23,54	23,61	
C18:0	11,49	11,39	11,46	11,36	11,37	11,38	11,42	11,24	11,45	11,55	11,41	
C18:1	29,33	29,59	29,94	29,22	29,31	29,44	29,58	29,68	29,74	29,48	27,5 *	

* Gecorrigeerde waarde m.b.v. GOC

rest 14,7

(VI.2) Standaardafwijking

												Relatieve stand.afw.
C 4:0	0,033	0,087	0,018	0,090	0,090	0,020	0,019	0,022	0,015	0,025	0,131	3,5
C 6:0	0,016	0,042	0,011	0,035	0,037	0,009	0,009	0,012	0,020	0,019	0,055	2,7
C 8:0	0,022	0,035	0,005	0,012	0,012	0,004	0,004	0,012	0,006	0,015	0,020	1,6
C10:0	0,024	0,045	0,007	0,012	0,012	0,010	0,010	0,017	0,006	0,015	0,025	1,0
C12:0	0,021	0,041	0,009	0,006	0,006	0,012	0,012	0,019	0,012	0,013	0,027	0,8
C14:0	0,042	0,091	0,008	0,033	0,033	0,008	0,008	0,058	0,021	0,045	0,062	0,6
C16:0	0,047	0,231	0,060	0,058	0,058	0,068	0,068	0,135	0,019	0,076	0,141	0,6
C18:0	0,030	0,039	0,033	0,026	0,026	0,045	0,045	0,044	0,017	0,145	0,086	0,8
C18:1	0,443	0,620	0,032	0,381	0,379	0,427	0,429	0,097	0,015	0,183	0,408	1,4

(VI.3) Gebruikte KF waarden

Injektie methode	TG IV	TG IV	TG IV	TG IV	TG III	TG IV	TG III	TG IV	TG IV	TG IV	Totaal gemid.
C 4:0	1,352	1,353	1,340	1,395	1,402	1,360	1,311	1,455	1,528	1,481	1,392
C 6:0	1,177	1,139	1,122	1,151	1,191	1,136	1,145	1,212	1,257	1,185	1,169
C 8:0	1,127	1,087	1,072	1,085	1,094	1,078	1,072	1,128	1,164	1,114	1,101
C10:0	1,075	1,040	1,029	1,036	1,049	1,034	1,033	1,073	10,74	10,67	1,051
C12:0	1,047	1,017	1,011	1,015	1,021	1,015	1,013	1,024	1,039	1,023	1,022
C14:0	1,020	1,006	1,006	1,008	1,016	1,008	1,013	1,016	1,019	1,018	1,013
C16:0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C18:0	0,996	0,977	0,988	0,984	0,990	0,982	0,992	0,972	0,998	0,986	0,987
C18:1	0,989	0,979	0,988	0,984	0,993	0,983	0,989	0,987	0,994	0,983	0,987

Tabel IV. Zuiverheidscontrole van alle vetzuren middels hun correctiefactoren
(geprogrammeerde analyse)

	Methylesterstandaard				Triglyceride standaard I			
	9 CP I	9 CP II	OV 275	Silar 5 CP	9 CP I	9 CP II	OV 275	Silar 5 CP
	piekopp. %							
C 4:0	2,44	2,41	1,92	2,11	2,57	2,52	2,10	niet uit-
C 6:0					1,65	1,63	1,58	gevoerd
C 8:0	2,14	2,12	2,08	2,02	0,85	0,84	0,84	
C10:0	3,81	3,78	3,79	3,68	2,74	2,71	2,73	
C12:0	3,45	3,43	3,45	3,37	3,44	3,39	3,40	
C14:0	18,87	18,84	19,17	18,99	12,64	12,54	12,69	
C16:0	24,65	24,57	24,91	24,89	49,77	50,00	51,02	
C18:0	17,66	17,88	17,84	17,66	10,05	9,96	9,85	
C18:1	26,97	26,95	26,81	27,28	16,28	16,38	15,81	
	KF waarden							
C 4:0	1,712	1,727	2,195	2,003	1,343	1,378	1,686	
C 6:0					1,173	1,190	1,260	
C 8:0	1,077	1,083	1,117	1,150	1,083	1,104	1,138	
C10:0	1,007	1,012	1,022	1,051	1,051	1,068	1,085	
C12:0	0,978	0,982	0,990	1,011	1,006	1,025	1,043	
C14:0	0,953	0,952	0,948	0,956	1	1,011	1,020	
C16:0	1	1	1	1	1	1	1	
C18:0	0,933	0,920	0,934	0,942	0,974	0,985	1,019	
C18:1	0,929	0,927	0,944	0,927	1,113	1,112	1,175	

Vervolg tabel IV. Zuiverheidscontrole van alle vetzuren middels hun correctiefactoren
(geprogrammeerde analyse)

	Triglyceridestandaard II						Samenstelling standaarden		
	A	B	A	B					
	9 CP I	9 CP I	9 CP II	9 CP II	OV 275	Silar 5 CP	MES	TG St I	TG St II
	piekopp. %						massa %		
C 4:0	3,49	3,33	3,45	3,28	2,88	3,17	4,27	3,35	4,28
C 6:0	3,59	3,52	3,62	3,52	3,54	3,48	-	1,88	3,99
C 8:0	1,78	1,78	1,78	1,76	1,80	1,74	2,35	0,90	1,86
C10:0	4,36	4,37	4,37	4,35	4,43	4,26	3,92	2,80	4,42
C12:0	6,15	6,20	6,16	6,17	6,24	6,09	3,45	3,36	6,05
C14:0	13,91	14,14	13,94	14,07	14,27	14,01	18,38	12,26	13,57
C16:0	31,23	31,56	31,25	31,72	31,79	31,56	25,18	48,33	30,00
C18:0	14,95	15,09	14,88	15,09	14,88	14,96	16,84	9,51	14,28
C18:1	20,53	20,01	20,55	20,05	20,17	20,73	25,60	17,60	21,55
	KF waarden								
C 4:0	1,284	1,355	1,297	1,384	1,589	1,429			
C 6:0	1,160	1,194	1,151	1,198	1,198	1,209			
C 8:0	1,091	1,102	1,084	1,118	1,099	1,128			
C10:0	1,055	1,064	1,054	1,073	1,057	1,091			
C12:0	1,023	1,025	1,022	1,037	1,027	1,046			
C14:0	1,015	1,010	1,014	1,020	1,008	1,019			
C16:0	1	1	1	1	1	1			
C18:0	0,994	0,995	0,999	1	1,016	1,004			
C18:1	1,092	1,134	1,092	1,136	1,132	1,093			

Grzynek 2

1,6

1,5

1,4

1,3

1,2

1,1

1,0

0,9

C

4:0

6:0

8:0

10:0

12:0

14:0

16:0

18:0

18 1

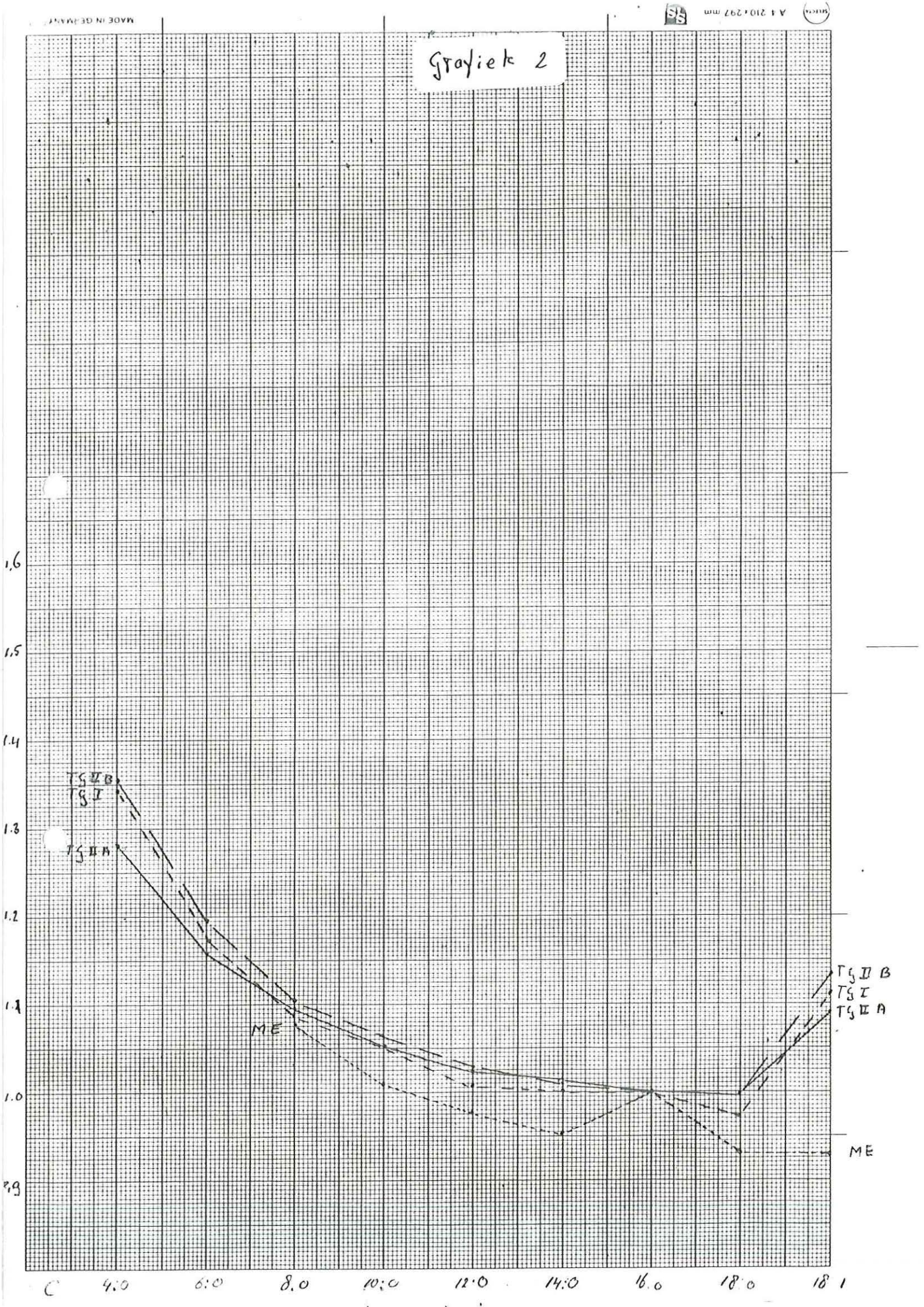
TSDB
TSI

TSBA

ME

TSDB
TSI
TSBA

ME



Afdeling Akkerbouw

1982-03-18

Verslag 82.42

Pr.nr 505.3010

Onderwerp: Referentiemateriaal voor de
bepaling van de vetzuursamen-
stelling van melkvet.

Verzendlijst: directeur, direktie VKA, sektorhoofd (3x), afdeling
Akkerbouw (4x), afd. Normalisatie (Humme), projekt
beheer, Projektleider (Muuse), Oortwijn, De Ruig, VKA,
NIZO (2x) t.a.v. dhr Badings.

VERSLAG 82.42

Projekt: Ontwikkeling en verbetering van onderzoekmethoden voor het bepalen van de vetzuur- en sterolsamenstelling van landbouw- en visserijprodukten.

Onderwerp: Referentiemateriaal voor de bepaling van de vetzuursamenstelling van melkvet.

Bijlagen: 2

Doel:

Vaststellen van de vetzuursamenstelling van een monster botervet om te komen tot een in Nederland geaccepteerd referentiemonster.

Samenvatting:

De samenstelling van enkele synthetische mengsels van triglyceriden werd berekend. De triglyceriden werden tevoren afzonderlijk gecontroleerd op zuiverheid aan de hand van correctiefactoren en gaschromatografische analyses. Met behulp van de triglyceride-mengsels werd de vetzuursamenstelling van een monster botervet vastgesteld. Dit resultaat werd vergeleken met de NIZO-uitkomst.

Conclusie:

Dit onderzoek was erg tijdrovend, doch de resultaten waren zeer bemoedigend. Het NIZO vond geheel onafhankelijk en op geheel andere wijze, een vrijwel gelijke samenstelling voor hetzelfde monster botervet. Uitwisseling van de synthetische mengsels met het NIZO moet uitmaken waardoor kleine verschillen in de samenstelling worden veroorzaakt. Daarna moeten de resultaten worden voorgelegd aan de Nederlandse Zuivelwerkgroep die zich hiermee bezig houdt.

Verantwoordelijk: drs B.G. Muuse 

Medewerker/Samensteller: H.J. van der Kamp 

Projektleider: drs B.G. Muuse

1. Inleiding:

Op 13 mei 1981 vond een bijeenkomst plaats van deelnemers aan het ringonderzoek vetzuursamenstelling botervet (verslag zie bijlage I). Dit ringonderzoek wordt al jaren door het RIKILT (voorheen RZS) verzorgd om zodoende het niveau van deze analyse ten behoeve van het Rijkstoezicht te begeleiden.

Op de bijeenkomst van 13 mei kwam het volgende naar voren:

1. Tussen de onderzoeksinstituten bestaat tot nu toe een groot verschil in niveau wat de analyse van de lagere vetzuren betreft (zie intern verslag 81.29).
2. Er is een grote behoefte aan een referentiemonster botervet waar de absolute samenstelling van vastgesteld moet worden aan de hand van synthetische mengsels van triglyceriden en/of methylesters.
3. De reproduceerbaarheid van de bepaling kan alvast bekeken worden aan de hand van een te maken ringtestmonster botervet, waarvan de deelnemers individueel een gemiddelde samenstelling bepalen, welke gebruikt wordt om de samenstelling van een 5-tal onbekende monsters vast te stellen.
4. Om de "absolute" samenstelling van datzelfde ringtestmonster botervet (referentie BV) te bepalen, zullen het NIZO en het RIKILT een onderzoek starten.

Na dit onderzoek zullen de resultaten ter beoordeling aan de Nederlandse Zuivelwerkgroep worden voorgelegd.

De ervaringen die bij dit onderzoek opgedaan zijn, zijn goed bruikbaar voor onze activiteiten voor de B.C.R. om te komen tot referentiematerialen voor verschillende oliën en vetten alsmede melkvet.

2. Apparatuur:

1 Varian 3700.

2 kolommen: 15% silar 9 CP op chrom. WAW 100-120 mesh,
lengte 3 m, ID 3 mm.

1 Varian 3700:

Kolommen: 15% silar 5 CP op chrom. WAW 100-120 mesh,
lengte 3 m ID 3 mm
15% OV 275 op chrom P
Lengte 6 m ID 3 mm

1 Varian 3700 capillair

Kolom: CP Sil 5
Lengte 40 m ID 0,23 mm.

Gebruikelijk laboratoriumglaswerk.

3. Reagentia.

Alle reagentia en oplosmiddelen zijn van analysekwaliteit.

3.1.1 Methanol

3.1.2 Kaliumhydroxideoplossing in methanol (2 N)

3.2 Kaliumhydroxide

3.3 Hexaan

3.4 Natriumbisulfaat

3.5 Zuivere triglyceriden (Fluka) en methylesters (Chrompack) van de volgende vetzuren:

C4:0 boterzuur	C10:0 caprinezuur	C16:0 palmitinezuur
C6:0 capronzuur	C12:0 laurinezuur	C18:0 stearinezuur
C8:0 caplylzuur	C14:0 myristinezuur	C18:1 oliezuur.

De zuiverheid van de triglyceriden werd opgegeven als > 99% (gaschromatografisch) en van de methylesters als 99+%.

4. Methoden.

4.1 Methylesterbereiding: conform NEN 6302: Bereiding van methylesters voor gaschromatografie en infraroodspectrofotometrie, methode 5 (methanolische KOH).

De methode werd op enkele punten aangepast voor het werken met een automaat en staat hieronder in het kort beschreven:

Maak een oplossing die ongeveer 10 mg triglyceriden per ml oplosmiddel bevat. Breng ca. 5 ml van deze oplossing in een buis van ca. 10 ml met stop. Voeg 100 µl kaliumhydroxideoplossing (3.1.2) toe en schud gedurende 20 seconden. Voeg ca. 0,5 gram natriumbisulfaat toe en schud wederom gedurende 30 seconden. Laat de oplossing een paar minuten staan. De oplossing is te gebruiken voor het injekteren op een G.C. Deze oplossing blijft enkele dagen bruikbaar mits de buis gesloten bewaard wordt (zie intern verslag 80.48).

4.2 Analyse van de methylesters: volgens NEN 6334:

"Gaschromatografische analyse van methylesters van vetzuren".

Opmerking:

- a. In NEN 6334 wordt het gehalte van elke component weergegeven door het gecorrigeerde percentage (m/m) van component i uitgedrukt in methylesters, terwijl wij dit uitdrukken in vetzuren.
- b. Gebruik van correctiefactoren. Correctiefactoren worden gebruikt om de percentages van de piekoppervlakken om te zetten in massapercentages van de componenten.

5. Bereiding synthetische mengsels.

Bij het afwegen van de methylesters en triglyceriden werden de vluchtigste verbindingen het laatst ingewogen. Na de inweging werden de mengsels direkt opgelost in het oplosmiddel zodanig dat een oplossing werd verkregen die als werkoplossing (1%) geschikt was. Zodoende werd uitkristallisatie van de triglyceriden in hexaan voorkomen.

De vetzuursamenstelling van de mengsels werd berekend op basis van vetzuur/vetzuur. Voor één van de mengsels werd dit als voorbeeld uitgewerkt in bijlage II, waarbij rekening is gehouden met de gaschromatografisch gevonden zuiverheden van de enkelvoudige componenten in 6.1.

6. Zuiverheidsonderzoek triglyceriden en methylesters.

6.1 Gaschromatografische zuiverheid. De gaschromatografische zuiverheid van de methylesters en de triglyceriden, de laatste na omzetting tot methylesters, werd bepaald. Om zoveel mogelijk informatie te krijgen over de zuiverheid werden de monsters onderzocht op drie verschillende types kolommen nl. op kolommen gevuld met 15% silar 5 cp en 15% silar 9 cp en op een apolaire capillaire kolom gecoat met cp sil 5. De gevonden zuiverheden staan vermeld in tabel I en II.

6.2 Dunnelaag zuiverheid. Er werden ook enkele methylesters en triglyceriden op een dunnelaagplaat gebracht. Dit leverde voor alle verbindingen één zichtbare band op. De detektiegevoeligheid leek niet nauwkeurig genoeg.

6.3 Vergelijking correctiefactoren van de hogere vetzuren. Voor de hogere vetzuren geldt dat de KF waarden rondom de één moeten liggen als deze gerelateerd worden aan de KF waarde van 1,000 voor bijvoorbeeld C 16:0. Voor de vetzuren vanaf C12:0 van de triglyceriden en de methylesters werden de KF waarden bepaald door mengsels te bereiden en deze te analyseren. De analyses werden isotherm uitgevoerd op 4 kolommen bij een zodanige temperatuur dat een goede scheiding werd verkregen tussen de C12:0 piek en de oplosmiddelpiek.

De resultaten staan vermeld in tabel III.

De analyses zijn minimaal in 4 voud uitgevoerd.

6.4 Discussie.

6.4.1 Uit tabel I bleek dat van de methylesters de opgegeven zuiverheid niet steeds boven de opgegeven 99% ligt. Met name de methylesters van myristine- en stearinezuur voldeden niet (resp. 98,90 en 96,76%).

6.4.2 Uit tabel II bleek ook van de triglyceriden de 99% zuiverheid niet altijd waar. Tripalmitine was maar 97,3% zuiver, de eerste charge trioleïne 98,84%.

6.4.3 De in tabel I en II genoemde rest bevat niet nader gespecificeerde vetzuren of verbindingen.

6.4.4 Uit tabel III bleek dat:

- a. de KF waarden die gevonden werden op de 4 verschillende kolommen goed met elkaar overeenstemden
- b. de KF waarden van trioleïne en methylpalmitaat sterk afweken ten opzichte van de overige KF waarden terwijl voor de KF waarden van tripalmitaat en methyloleaat dit niet het geval was (zie grafiek 1 t/m 4 v.a. C12:0). Trioleïne en methylpalmitaat bevatten waarschijnlijk niet elueerbare bestanddelen. Van trioleïne (Fluka) werd een nieuwe charge onderzocht die wel een goede KF waarde gaf. Deze charge is in het verdere onderzoek gebruikt.

7. Analyse van synthetische mengsels met hogere en lagere vetzuren.

7.1 Uitvoering: Van twee door ons samengestelde triglyceridenmengsels en van één methylestermengsel werd de vetzuursamenstelling bepaald. Dit werd met de verschillende typen kolommen gedaan om meer zekerheid te krijgen over de juistheid van de analyse.

De resultaten staan vermeld in tabel IV, bovendien staan de KF waarden grafisch weergegeven in de grafieken 1, 2, 3 en 4 voor de verschillende kolommen. Triglyceridestandaard II werd (na een aantal weken) nogmaals onderzocht op de beide silar 9 cp kolommen (resultaten in tabel IV onder de letter B).

Opmerking: In het methylestermengsel zit geen methylcaproaat, daar dit door verdamping niet meer voorradig was.

7.2 Discussie

7.2.1 Bij onderlinge vergelijking van de kolommen viel op dat de KF waarden die gevonden werden op de twee silar 9 cp kolommen aanmerkelijk lager waren, wat betreft de lagere vetzuren, dan de KF waarden op de OV 275 en de Silar 5 cp kolom. Op de OV 275 kolom vond waarschijnlijk adsorptie plaats van de lagere vetzuren, op de silar 5 cp kolom was de scheiding tussen de oplosmiddelpiek en de C4:0 piek slecht, wat voor C4:0 een hogere KF waarde kan geven. Deze kolommen zijn dan ook minder geschikt voor de analyse van de lagere vetzuren en werden niet gebruikt voor het verdere onderzoek.

7.2.2 De KF waarden van de hogere vetzuren (vanaf C12:0) waren voor de verschillende kolommen vrijwel gelijk. Ook werden slechts geringe verschillen geconstateerd in KF waarde tussen een isotherme en geprogrammeerde analyse (vergelijk tabel III met tabel IV).

7.2.3 Het methylestermengsel werd verder niet meer gebruikt voor de bepaling van de absolute samenstelling van het referentiemonster omdat de KF waarden van boterzuur en palmitinezuur sterk afweken.

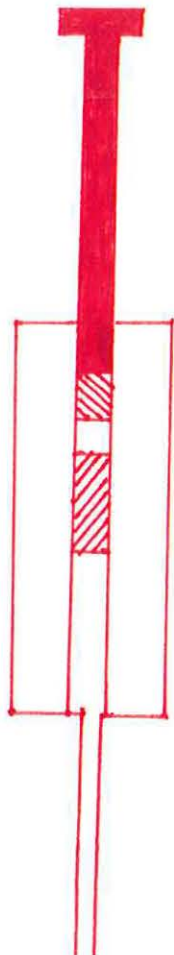
8. Onderzoek naar bronnen van fouten.

8.1 Discriminatie bij het injekteren. Alvorens het onderzoek voort te zetten is nagegaan of er discriminatie optreedt bij het injekteren van botervetmengsels. Discriminatie ontstaat door selektieve verdamping van de methylesters van de vetzuren uit de naald van de injectiespuit tijdens injectie.

Dit heeft geleid tot intern verslag 81.74.

De belangrijkste conclusies hieruit zijn:

- a. er treedt discriminatie op bij alle onderzochte injectiesystemen
- b. de discriminatie is tot een minimum te bespreken door een injectiemethode te kiezen waarbij in de injectiespuit de monsteroplossing zit opgesloten tussen twee luchtlagen, waarbij de injectienaald wordt nagespoeld met oplosmiddel en waarbij de injectienaald 30 sec. in het injectieblok wordt gehouden (soort "sandwich" methode).



Oplosmiddel.

Lucht.

Monster.

Lucht.

Bij het verder onderzoek zijn de monsters op de bovenbeschreven manier ingespoten tenzij anders vermeld.

8.2 Verdamping van methylesters en triglyceriden? Naar de verdamping van methylesters en triglyceriden in standaardmengsels bij kamperatuur werd een onderzoek verricht. Van triglyceridemengsel III werden 4 monsters genomen. Deze werden volgens onderstaand schema gemethyleerd en geanalyseerd na open resp. gesloten bewaard geweest te zijn. 4 Uur na de eerste analyse werden de monsters voor een tweede keer geïnjecteerd (duplo uit dezelfde methylering, monster gesloten bewaard tussen de analyses)

monster	gemethyleerd na	1e injectie na	methyleringsbuis open gedurende	2 injectie na
1	0 uur	0 uur	0 uur	5 uur
2	0 uur	1 uur	1 uur	6 uur
3	2 uur	2 uur	2 uur	7 uur
4	3 uur	3 uur	0 uur	8 uur

Alle insputtingen zijn met het automatisch injectiesysteem uitgevoerd.

Resultaten: Tabel V.

Bespreking van de resultaten:

- de gaschromatografische duplo's zijn goed (1e en 2e injectie uit dezelfde methylering)
- er zit een zekere spreiding in de analyses tussen de 4 monsters onderling
- daar de monsters 1 en 4 niet blootgesteld zijn aan de lucht en dus onveranderd zijn en voor de monsters 2 en 3 dezelfde samenstelling werd gevonden, kan gesteld worden dat er geen duidelijk waarneembare verdamping van de methylesters en triglyceriden van de lagere vetzuren optrad.

9. Bepaling van de absolute samenstelling van het referentie monster botervet met behulp van triglyceridemengsels.

9.1 Uitvoering: De KF waarden voor de vetzuren werden bepaald op twee Silar 9 cp kolommen met de triglyceridemengsels III en IV. De gemiddelde KF waarden hiervan werden gebruikt om de samenstelling van het referentiemonster botervet te bepalen. De analyses werden in week 47, 48 en 52 uitgevoerd.

De monsters werden zowel met de "sandwich"methode als met het AIS geïnjecteerd op de gaschromatograaf.

9.2 Resultaten. In tabel IV staan de gemiddelden van de KF waarden (VI.3) en de hiermee gevonden gemiddelde samenstelling van het referentiemonster botervet (VI.1) alsmede het gemiddelde van deze gemiddelden met de absolute en relatieve standaardafwijking (VI.2). Tevens staat in tabel VI de door het NIZO gevonden samenstelling die ze geheel onafhankelijk van ons bepaald hebben met standaarden van andere firma's en met behulp van capillaire gaschromatografie.

9.3 Discussie.

9.3.1 De gebruikte gemiddelde KF waarden voor berekening van de samenstelling varieerden in de loop der tijd sterk (VI.3). Er zit min of meer een oplopende lijn in voor de lagere vetzuren, wat kan duiden op een met de tijd slechter wordende kolom. Dit kan echter geen invloed hebben op de vaststelling van de samenstelling van het referentiemonster botervet zolang de reproduceerbaarheid van de kolom (per dag) goed is.

9.3.2 Er is geen verschil te zien in de analyseresultaten van de met de hand geïnjecteerde monsters (sandwich) en de met het automatische injectiesysteem (AIS) ingespoten monsters.

9.3.3 De grote standaardafwijking van oliezuur is te wijten aan integratieproblemen daar er op de plaats van de oliezuurpiek meerdere componenten elueren van de kolom.

9.3.4 Vergelijking van het totaalgemiddelde met de voorlopige resultaten van het NIZO ziet er bemoedigend uit. De grootste verschillen worden gevonden voor oliezuur, palmitinezuur en capronzuur (C6:0).

Olieuur wordt bij het NIZO (capillair) beter gescheiden (zie ook 9.3.3) van andere componenten en geeft zodoende een lagere concentratie dan bij het RIKILT het geval is. Bestudering van de chromatogrammen kan hier uitsluitsel geven.

Voor palmitinezuur vond het NIZO een KF waarde van 0,95 terwijl een KF waarde van 1,0 verwacht moest worden. Voor capronzuur is niet geheel duidelijk wat het verschil veroorzaakt. Afgesproken is om de triglyceridestandaardmengsels van RIKILT en NIZO uit te wisselen om zodoende beter te kunnen vaststellen wat de oorzaak is voor de afwijking in het palmitine- en capronzuurgehalte.

10 Eindconclusie.

De absolute samenstelling van het ringtestmonster botervet werd op de in dit verslag beschreven wijze vastgesteld en vergeleken met de door het NIZO gevonden samenstelling. Het NIZO vond een vrijwel gelijke samenstelling, alleen voor C6:0, C16:0 en C18:1 werden nog kleine afwijkingen gevonden.

De synthetische mengsels van beide instituten werden hierna uitgewisseld en zullen voor afsluitend onderzoek gebruikt worden.

Inhoudsopgave

Blz.

1.	Inleiding	1
2.	Apparatuur	2
3.	Reagentia	2
4.	Methoden	2
4.1	Methylesterbereiding	2
4.2	Analyse van de methylesters	3
5.	Bereiding van synthetische mengsels	3
6.	Zuiverheidsonderzoek triglyceriden en methylesters	3
6.1	Gaschromatografische zuiverheid	3
6.2	Dunnelaag zuiverheid	4
6.3	Vergelijking van de correctiefactoren van de hogere vetzuren	4
6.4	Discussie	4
7.	Analyse van synthetische mengsels met hogere en lagere vetzuren	5
7.1	Uitvoering	5
7.2	Discussie	5
8.	Onderzoek naar bronnen van fouten	6
8.1	Discriminatie bij het injecteren	6
8.2	Verdamping van methylesters en triglyceriden	7
9.	Bepaling van de absolute samenstelling van het referentiemonster botervet	7
9.1	Uitvoering	7
9.2	Resultaten	8
9.3	Discussie	8
10	Eindconclusie	9

Tabellen

Tabel I	Vetzuursamenstelling van de methylesters (GC zuiverheid)
Tabel II	Vetzuursamenstelling van de triglyceriden (GC zuiverheid)
Tabel III	Zuiverheidscontrole van de hogere vetzuren middels hun correctiefactoren
Tabel IV	Zuiverheidscontrole van alle vetzuren middels hun correctiefactoren
Tabel V	Controle op eventuele verdamping van de methylesters of triglyceriden
Tabel VI	Gemiddelde uitslagen referentiemonster Botervet

Grafieken

Grafiek 1	Correctiefactoren van de synthetische mengsels op silar 9 CP (A) kolom
Grafiek 2	Correctiefactoren van de synthetische mengsels op silar 9 CP (B) kolom
Grafiek 3	Correctiefactoren van de synthetische mengsels op silar 5 CP kolom
Grafiek 4	Correctiefactoren van de synthetische mengsels op OV 275 kolom

Bijlagen

1. Samenvatting van de bijeenkomst van deelnemers aan het ringonderzoek vetzuursamenstelling botervet.
2. Voorbeeld omrekening van triglyceride/triglyceride naar vetzuur/vetzuur.

Tabel I. Vetzuursamenstelling van de methylesters (gaschromatografische zuiverheid)

	C 4:0	C 6:0	C 8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	Rest.
C 4:0	99,99									-
C 6:0		99,90								-
C 8:0			99,84		0,12					0,04
C10:0				99,80						0,20
C12:0				0,10	99,00	0,82				0,08
C14:0					0,70	98,90	0,23			0,17
C16:0						0,05	99,40	0,41		0,04
C18:0						0,05	1,85	96,76		1,34
C18:1							0,18	0,05	99,56	0,21

Tabel II. Vetzuursamenstelling van de triglyceriden (gaschromatografische zuiverheid)

	C 4:0	C 6:0	C 8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	Rest.
C 4:0	99,80									0,20
C 6:0		99,99								-
C 8:0			99,99							-
C10:0				99,99						-
C12:0					99,90		0,03			0,06
C14:0						99,99				-
C16:0						0,38	97,30	0,92		1,40
C18:0							0,07	99,47		0,46
C18:1*							0,20	0,08	98,84	0,88
C18:1*							0,03		99,60	0,37

* Van trioleïne zijn 2 verschillende charges onderzocht.

De eerste charge werd verworpen.

Tabel III. Zuiverheidscontrole van de hogere vetzuren middels hun correctiefactoren (isothermeanalyse)

	Triglyceride standaard I				Triglyceride standaard II			
	9 CP I	9 CP II	5 CP	OV 275	9 CP I	9 CP II	5 CP	OV 275
	piekopp. %				piekopp. %			
C12:0	3,81	3,82	3,63	3,78	7,35	7,47	7,05	7,25
C14:0	13,80	13,83	13,54	13,83	16,44	16,61	16,20	16,37
C16:0	54,12	54,40	54,01	54,54	36,14	36,25	36,04	36,22
C18:0	10,64	10,48	10,55	10,42	16,94	16,79	16,87	16,87
C18:1	17,62	17,50	18,27	17,43	23,13	22,88	23,83	23,28
	KF waarden							
C12:0	0,987	0,992	1,035	1,003	0,993	0,979	1,031	1,007
C14:0	0,994	0,997	1,012	1,001	0,995	0,987	1,007	1,001
C16:0	1	1	1	1	1	1	1	1
C18:0	1,002	1,022	1,008	1,031	1,016	1,028	1,017	1,021
C18:1	1,119	1,132	1,076	1,140	1,123	1,138	1,087	1,118

	Methylester standaard					Ingewogen samenstelling		
	9 CP I	9 CP II	5 CP	OV 275		TG I S	TG II S	MES
	piekopp. %					massa %		
C12:0	3,85	3,88	3,82	3,96	C12:0	3,69	7,08	3,86
C14:0	20,92	20,96	21,03	21,33	C14:0	13,46	15,88	20,55
C16:0	27,12	26,98	26,98	27,13	C16:0	53,07	35,10	28,15
C18:0	19,14	19,06	18,96	18,90	C18:0	10,45	16,71	18,83
C18:1	28,96	29,12	29,33	28,67	C18:1	19,33	25,22	28,62
	KF waarden							
C12:0	0,964	0,953	0,969	0,939				
C14:0	0,946	0,939	0,937	0,928				
C16:0	1	1	1	1				
C18:0	0,950	0,946	0,959	0,967				
C18:1	0,956	0,940	0,935	0,962				

Tabel IV. Zuiverheidscontrole van alle vetzuren middels hun correctiefactoren
(geprogrammeerde analyse)

	Methylesterstandaard				Triglyceride standaard I			
	9 CP I	9 CP II	OV 275	Silar 5 CP	9 CP I	9 CP II	OV 275	Silar 5 CP
	piekopp. %							
C 4:0	2,44	2,41	1,92	2,11	2,57	2,52	2,10	niet uit-
C 6:0					1,65	1,63	1,58	gevoerd
C 8:0	2,14	2,12	2,08	2,02	0,85	0,84	0,84	
C10:0	3,81	3,78	3,79	3,68	2,74	2,71	2,73	
C12:0	3,45	3,43	3,45	3,37	3,44	3,39	3,40	
C14:0	18,87	18,84	19,17	18,99	12,64	12,54	12,69	
C16:0	24,65	24,57	24,91	24,89	49,77	50,00	51,02	
C18:0	17,66	17,88	17,84	17,66	10,05	9,96	9,85	
C18:1	26,97	26,95	26,81	27,28	16,28	16,38	15,81	
	KF waarden							
C 4:0	1,712	1,727	2,195	2,003	1,343	1,378	1,686	
C 6:0					1,173	1,190	1,260	
C 8:0	1,077	1,083	1,117	1,150	1,083	1,104	1,138	
C10:0	1,007	1,012	1,022	1,051	1,051	1,068	1,085	
C12:0	0,978	0,982	0,990	1,011	1,006	1,025	1,043	
C14:0	0,953	0,952	0,948	0,956	1	1,011	1,020	
C16:0	1	1	1	1	1	1	1	
C18:0	0,933	0,920	0,934	0,942	0,974	0,985	1,019	
C18:1	0,929	0,927	0,944	0,927	1,113	1,112	1,175	

Vervolg tabel IV. Zuiverheidscontrole van alle vetzuren middels hun correctiefactoren
(geprogrammeerde analyse)

	Triglyceridestandaard II						Samenstelling standaarden		
	A	B	A	B					
	9 CP I	9 CP I	9 CP II	9 CP II	OV 275	Silar 5 CP	MES	TG St I	TG St II
	piekopp. %						massa %		
C 4:0	3,49	3,33	3,45	3,28	2,88	3,17	4,27	3,35	4,28
C 6:0	3,59	3,52	3,62	3,52	3,54	3,48	-	1,88	3,99
C 8:0	1,78	1,78	1,78	1,76	1,80	1,74	2,35	0,90	1,86
C10:0	4,36	4,37	4,37	4,35	4,43	4,26	3,92	2,80	4,42
C12:0	6,15	6,20	6,16	6,17	6,24	6,09	3,45	3,36	6,05
C14:0	13,91	14,14	13,94	14,07	14,27	14,01	18,38	12,26	13,57
C16:0	31,23	31,56	31,25	31,72	31,79	31,56	25,18	48,33	30,00
C18:0	14,95	15,09	14,88	15,09	14,88	14,96	16,84	9,51	14,28
C18:1	20,53	20,01	20,55	20,05	20,17	20,73	25,60	17,60	21,55
	KF waarden								
C 4:0	1,284	1,355	1,297	1,384	1,589	1,429			
C 6:0	1,160	1,194	1,151	1,198	1,198	1,209			
C 8:0	1,091	1,102	1,084	1,118	1,099	1,128			
C10:0	1,055	1,064	1,054	1,073	1,057	1,091			
C12:0	1,023	1,025	1,022	1,037	1,027	1,046			
C14:0	1,015	1,010	1,014	1,020	1,008	1,019			
C16:0	1	1	1	1	1	1			
C18:0	0,994	0,995	0,999	1	1,016	1,004			
C18:1	1,092	1,134	1,092	1,136	1,132	1,093			

Tabel V. Controle op eventuele verdamping van de methylesters of triglyceriden in standaardmengsels bij kamertemperatuur

1e injectie

Monster	no. 1	no. 2	no. 3	no. 4
	piekopp. %			
C 4:0	2,768	2,758	2,928	2,873
C 6:0	2,227	2,229	2,299	2,278
C 8:0	1,4	1,407	1,432	1,418
C10:0	3,301	3,3	3,34	3,314
C12:0	3,972	3,99	3,976	3,985
C14:0	11,12	11,06	11,06	11,06
C16:0	28,38	28,29	28,17	28,1
C18:0	13,56	13,59	13,55	13,53
C18:1	33,27	33,38	33,25	33,43
Totaal	99,98	99,99	99,98	99,98

2e injectie

Monster	no. 1	no. 2	no. 3	no. 4
	piekopp. %			
C 4:0	2,803	2,746	2,885	2,866
C 6:0	2,249	2,215	2,3	2,285
C 8:0	1,418	1,404	1,436	1,429
C10:0	3,306	3,282	3,323	3,325
C12:0	3,981	3,98	3,983	3,997
C14:0	11,09	11,08	11,07	11,06
C16:0	28,31	28,33	28,19	28,23
C18:0	13,52	13,58	13,51	13,5
C18:1	33,32	33,38	33,3	33,29
Totaal	99,99	99,99	99,98	99,98

Tabel VI.

(VI.1) Gemiddelde uitslagen referentiemonster botervet

Kolon:	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A			
Week :	47	47	47	48	48	48	48	52	52	52			
aantal anal.:	5	6	3	5	5	5	5	4	3	4			

Injektie methode	Sandw.	Sandw.	AIS	AIS	AIS	AIS	AIS	Sandw.	Sandw.	AIS	Totaal genid.	Relatieve stand.afw.	Result. NIZO
C 4:0	3,57	3,59	3,59	3,84	3,83	3,76	3,62	3,84	3,90	3,81	3,73		3,79
C 6:0	2,00	2,02	2,01	2,09	2,16	2,07	2,08	2,10	2,13	2,08	2,07		2,26
C 8:0	1,22	1,23	1,22	1,24	1,25	1,24	1,23	1,24	1,26	1,24	1,24		1,29
C10:0	2,57	2,61	2,59	2,60	2,62	2,61	2,60	2,61	2,64	2,62	2,61		2,63
C12:0	3,22	3,25	3,24	3,24	3,24	3,24	3,23	3,19	3,27	3,20	3,23		3,24
C14:0	9,82	9,97	9,94	9,91	9,94	9,93	9,96	9,90	9,98	9,90	9,92		9,85
C16:0	23,46	23,77	23,62	23,68	23,54	23,70	23,66	23,49	23,54	23,54	23,61		22,22
8:0	11,49	11,39	11,46	11,36	11,37	11,38	11,42	11,24	11,45	11,55	11,41		11,72
C18:1	29,33	29,59	29,94	29,22	29,31	29,44	29,58	29,68	29,74	29,48	29,49		28,40

(VI.2) Standaardafwijking

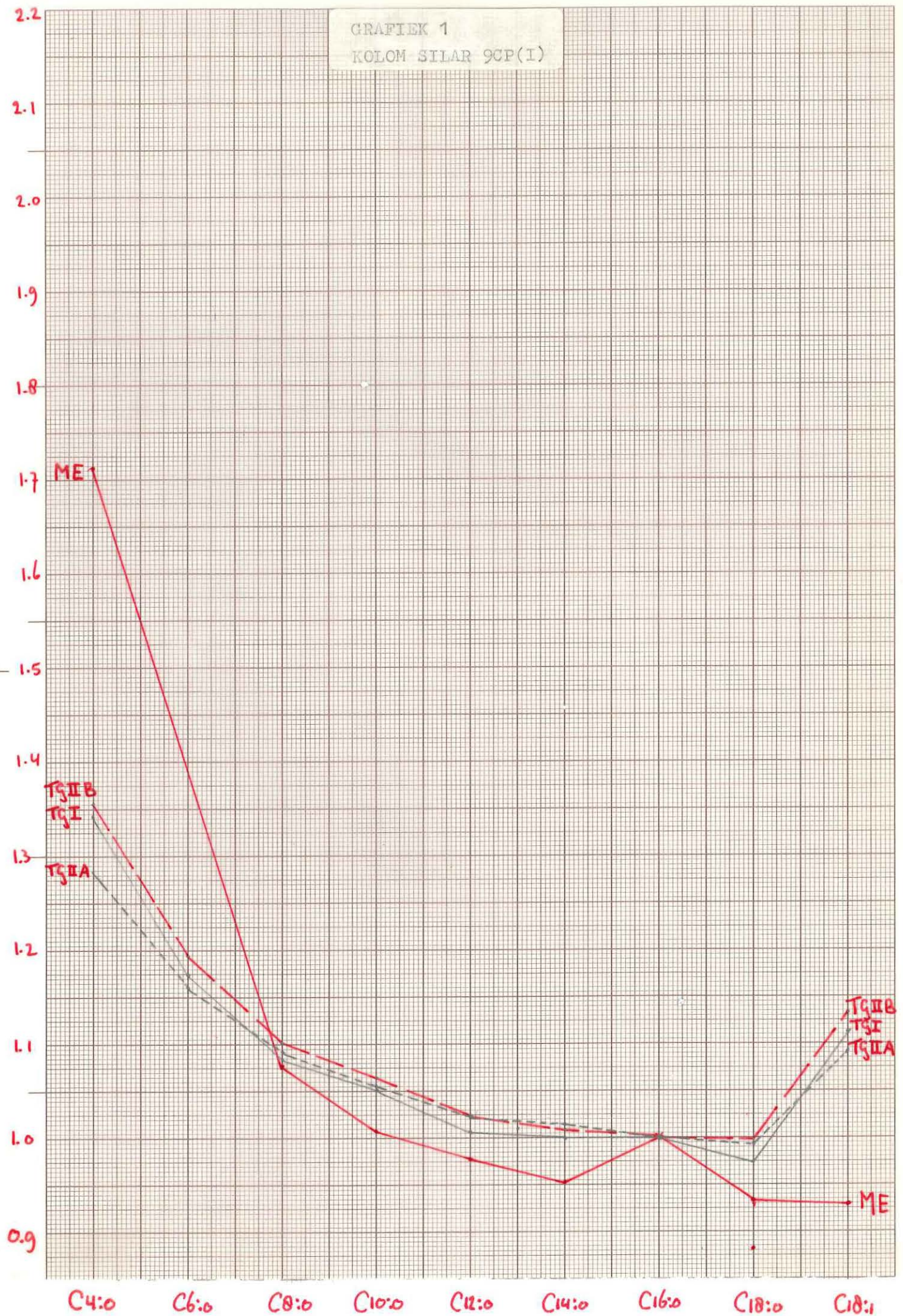
												Relatieve stand.afw.	
C 4:0	0,033	0,087	0,018	0,090	0,090	0,020	0,019	0,022	0,015	0,025	0,131	3,5	0,17
C 6:0	0,016	0,042	0,011	0,035	0,037	0,009	0,009	0,012	0,020	0,019	0,055	2,7	0,07
C 8:0	0,022	0,035	0,005	0,012	0,012	0,004	0,004	0,012	0,006	0,015	0,020	1,6	0,02
C10:0	0,024	0,045	0,007	0,012	0,012	0,010	0,010	0,017	0,006	0,015	0,025	1,0	0,03
C12:0	0,021	0,041	0,009	0,006	0,006	0,012	0,012	0,019	0,012	0,013	0,027	0,8	0,03
C14:0	0,042	0,091	0,008	0,033	0,033	0,008	0,008	0,058	0,021	0,045	0,062	0,6	0,08
C16:0	0,047	0,231	0,060	0,058	0,058	0,068	0,068	0,135	0,019	0,076	0,141	0,6	0,25
C18:0	0,030	0,039	0,033	0,026	0,026	0,045	0,045	0,044	0,017	0,145	0,086	0,8	0,31
C18:1	0,443	0,620	0,032	0,381	0,379	0,427	0,429	0,097	0,015	0,183	0,408	1,4	0,49

(VI.3) Gebruikte KF waarden

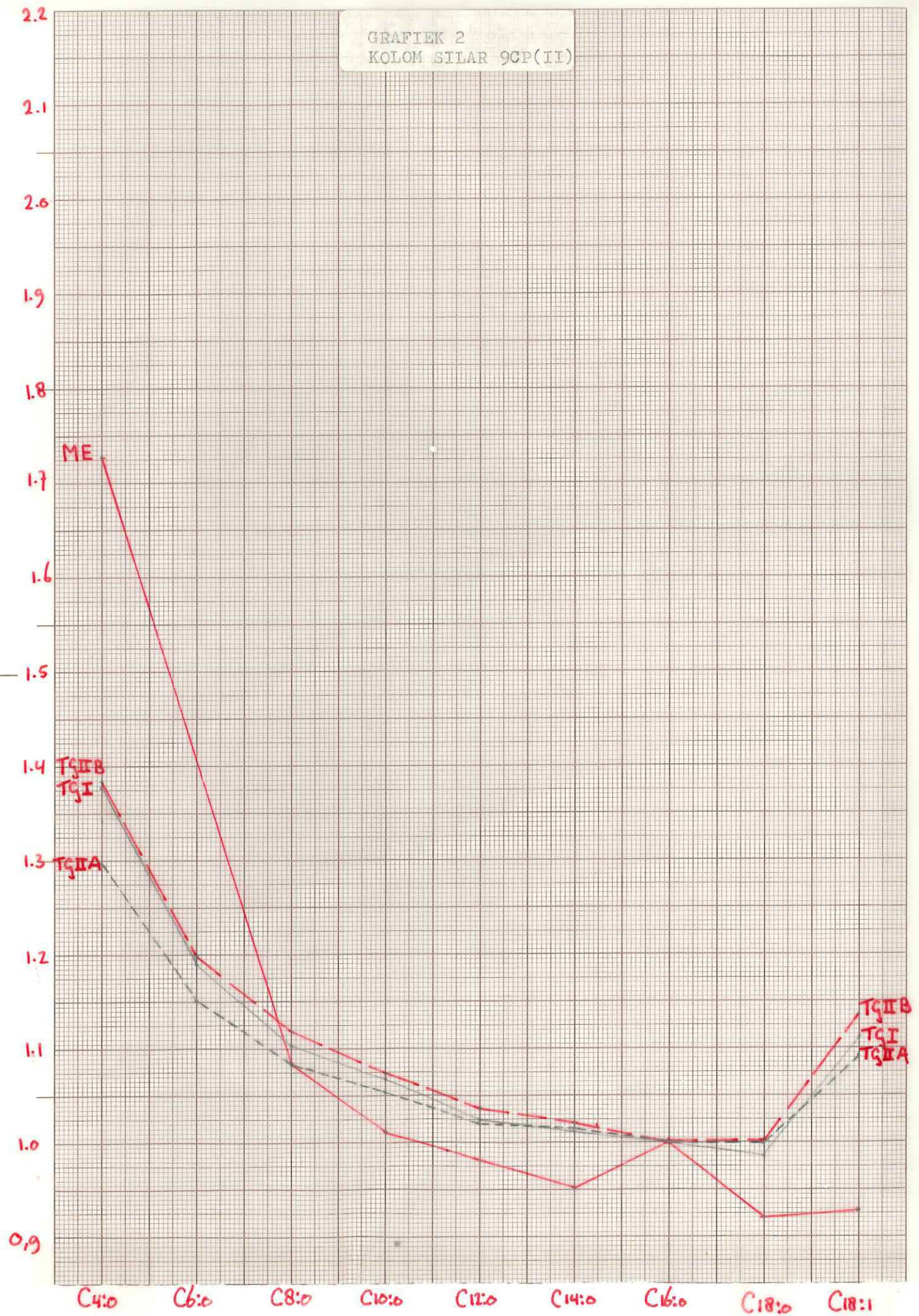
Injektie methode	TG IV	TG IV	TG IV	TG IV	TG III	TG IV	TG III	TG IV	TG IV	TG IV	Totaal genid.
C 4:0	1,352	1,353	1,340	1,395	1,402	1,360	1,311	1,455	1,528	1,481	1,392
C 6:0	1,177	1,139	1,122	1,151	1,191	1,136	1,145	1,212	1,257	1,185	1,169
C 8:0	1,127	1,087	1,072	1,085	1,094	1,078	1,072	1,128	1,164	1,114	1,101
C10:0	1,075	1,040	1,029	1,036	1,049	1,034	1,033	1,073	10,74	10,67	1,051
C12:0	1,047	1,017	1,011	1,015	1,021	1,015	1,013	1,024	1,039	1,023	1,022
C14:0	1,020	1,006	1,006	1,008	1,016	1,008	1,013	1,016	1,019	1,018	1,013
C16:0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C18:0	0,996	0,977	0,988	0,984	0,990	0,982	0,992	0,972	0,998	0,986	0,987
C18:1	0,989	0,979	0,988	0,984	0,993	0,983	0,989	0,987	0,994	0,983	0,987

Tabel.6

GRAFIK 1
KOLOM SILAR 9CP(I)



GRAFIK 2
KOLOM SILAR 9CP(II)



GRAFIK 3
KOLOM OV 275



GRAFIK 4
KOLOM SILAR 5CP



Samenvatting van de bijeenkomst dd. 13 mei 1980 van deelnemers
aan het ringonderzoek - vetzuursamenstelling botervet.

Aanwezig: Badings (NIZO); Boerma (Nutricia); Douma (CCF); Fokkema (KCS Friesland); Jans (ZC Leusden); V.d. Kamp (RIKILT); De Knecht (ZC Leusden); Kooi (KCS Friesland); Mannaert (ONLG); Muuse (RIKILT); Olling (CCF); Oortwijn (Vz) (RIKILT).

Afwezig : Demeter (Belgische Nationale Zuiveldienst).

1. Na opening van de vergadering stelt de voorzitter de volgende agendapunten voor:
 1. opening
 2. bespreking analyseresultaten
 3. bespreking overzicht analysemethoden
 4. mogelijkheden ter verbetering van de analysemethode
 5. sluiting.

Van dhr. Demeter kwam tevens het voorstel om ook de bepaling van melkvet in een mengsel ter discussie te nemen.

2. Voordat de analyseresultaten van de verschillende onderzoekers onderling vergeleken kunnen worden en eventueel statistisch verwerkt, zijn er een paar kanttekeningen nodig bij de berekening van de resultaten.

De NIZO cijfers werden verkregen zonder gebruik te maken van korrektiefactoren. Alleen van de vier laatste rondzendmonsters zijn resultaten bekend die verkregen werden met korrektiefactoren. Van deze laatste vier monsters zal dhr. Badings de resultaten nog doorgeven.

Dhr. Olling merkt hierbij op dat ook op de vorige bijeenkomst de noodzaak van Kf waarden besproken werd en dat toen al de afspraak werd gemaakt om vanuit het RZS een botervetmengsel te maken met tributyrine. Vanwege de ingrijpende veranderingen bij het RZS is daar echter nooit iets van gekomen.

Dhr. Mannaert wijst op de moeilijke integratie van de linolzuur piek omdat daar meerdere componenten onder dezelfde piek zitten.

Dhr. Mannaert heeft uit resultaten een variatiecoëfficiënt berekend van ca.15%. Wanneer de waarden per laboratorium op hetzelfde gemiddelde gebracht worden, dan wordt de variatiecoëfficiënt 5-9%. Dit is in feite de reproduceerbaarheid die met de tot nu toe gebruikelijke methoden haalbaar is wanneer alle deelnemers dezelfde BV standaard zouden nemen voor de bepaling van de Kf waarden.

Men is het er over eens dat het wenselijk is om de resultaten toch af te ronden met een statistisch rapport. Dit zal door het RIKILT verzorgd worden rekening houdend met de opmerkingen t.a.v. de NIZO-cijfers.

Voor de komende rondzendmonsters wordt het volgende vastgesteld:

- 1e Duplo bepalingen zijn twee volledig gescheiden bepalingen die direkt of kort na elkaar worden uitgevoerd door dezelfde analist.
- 2e Korrektieafactoren worden verkregen door analyse van een referentie botervet monster.

Om de absolute samenstelling van het referentie B.V. monster te kunnen bepalen werden een aantal suggesties gedaan voor mengsels waaruit de Kf waarden kunnen worden bepaald.

- A. een synthetisch mengsel van hogere vetzuur triglyceriden waaraan tributyrine is toegevoegd. De moeilijkheid hierbij is dat tristearine een hoog smelt-punt heeft waarbij tributyrine verdwijnt. Dit zou ondervangen worden door het mengsel op te lossen in b.v. hexaan.
- B. een monster met alleen hogere vetzuur triglyceriden en mengsels daarvan met resp. C 4, 6 en 8.
- C. een reuzel waaraan tributyrine is toegevoegd. Reuzel zou echter vetzuren hoger dan C₂₀ bevatten wat ook weer problemen geeft.
- D. een synthetisch mengsel van vetzuur methylesters overeenkomend met een BV samenstelling.
- E. Cacao botervet waaraan lagere vetzuur triglyceriden zijn toegevoegd.

De meeste deelnemers hebben hun analyse ooit getest met een mengsel van synthetische triglyceriden. Mogelijk zou Unilever een mengsel met goed zuivere triglyceriden kunnen leveren.

Uiteindelijk werd besloten om voor de volgende gelegenheid een botervet rond te sturen waarvan de gemiddelde samenstelling als referentie genomen zal worden. In de daaropvolgende keren zullen de monsters geanalyseerd worden met de verkregen Kf waarden uit het eerste referentiemonster.

De gebruikte Kf waarden zullen bij de analyseresultaten vermeld worden.

Dhr. Badings zal door het NIZO de referentiemonsters laten maken uit verse zoetgekarnde boter die in ampullen onder stikstof en bij minus 20 °C bewaard wordt met daarnaast een depot reserve.

Ieder laboratorium ontvangt 6 ampullen met elk 5 gr BV.

Op deze wijze zou een variatie coëfficiënt van ca. 5% te verkrijgen zijn wat al erg fraai is.

Onzekerheid blijft echter bestaan over het juiste niveau van de bepaling. Hiertoe zullen NIZO en RIKILT tezamen een voorbereidend onderzoek doen met o.a. cacaobotervet en synthetische mengsels. Daarna zal weer een ringtest worden gehouden met een monster met bekende samenstelling waarmee het BV. referentiemonster te ijken is. Dit BV. referentiemonster met absolute samenstelling kan dan voor een aantal jaren gebruikt worden als referentie standaard.

3. Analyse methode.

Aan de hand van het vergelijkingsoverzicht werden de methoden van de verschillende laboratoria besproken en de aanvullende gegevens weergegeven in bijlage I.

Enkele opmerkingen:

Methylester bereiding:

- De vluchtigheid van het oplosmiddel is van invloed op de selectieve-verdamping in de injectienaald. Vooral bij injecteren van kleine hoeveelheden kan dit een rol gaan spelen.
- Bij de CCF en ONL is onderzoek verricht naar de verdamping van de componenten uit het oplosmiddel tijdens de methylering.
Bij directe injectie was dit geen probleem.
- Christopherson/Glass schrijft als reagens voor KOH/MeOH danwel NaOMe/MeOH. Natrium methoxide heeft als voordeel dat er geen water aanwezig is waardoor de kans op verzeping afwezig is. Bij KOH komt water vrij uit de KOH pillen. Onderzoek bij de CCF wees echter uit dat toevoeging van water geen verzeping van betekenis gaf in het geval van KOH/MeOH. Bij het RZS werd na 24 uur staan echter wel een verlaging van C_4 waargenomen.
- Dhr. Mannaert verwacht voor de analyse resultaten niet dat de problemen bij de bereiding van de methylesters liggen.

GLC van de methylesters.

- Het RIKILT wijst op de problemen die zij hadden bij injectie van verschillende hoeveelheden monster. De Kf waarden wijzigden vrij fors. Vele factoren kunnen hier de oorzaak van zijn. Het betekent wel dat de Kf waarden veranderen bij wijziging van de samenstelling van het methylester mengsel.

De hoeveelheid van de component waarop de Kf waarde betrokken wordt dient dus constant te zijn.

- Als referentiestoffen voor bepaling van de Kf waarden worden gebruikt:

Leusden, NIZO, Nutricia	- Methylesters
NIZO, RIKILT, BKS	- triglyceriden
CCF	- vrije vetzuren

Dit levert toch vrijwel gelijke Kf waarden.

- De controle op de Kf waarden gebeurt met een zeer verschillende frequentie nl. van om de 5 analyses tot nooit en er wordt dan ook zeer verschillend over geoordeeld.

4. Rondvraag

- Dhr. Muuse vraagt of het NNI benaderd moet worden om de BV. norm 3724 (GLC van de vrije lagere vetzuren) in te trekken. Niemand blijkt die methode te volgen en er is een NEN ontwerp 6302 en 6334 voor bepaling van de vetzuursamenstelling in melkvet.

Dhr. Oortwijn zal dit verder op zich nemen.

- Dhr. Badings merkt op dat de Christopherson/Glass methode niet opgaat voor gelipolyiseerd vet. Hij heeft de methode gemodificeerd waarbij met NaOMe na aanzuren bij hogere temperatuur langdurig wordt geschud (60 min. bij 80 °C). De methylering gaat dan wel goed.

In België schudt men 3 uur bij 105 °C.

- Dhr. Olling informeert naar de bereiding van de rondzendmonsters in het verleden. Zaten er (blinde) duplo monsters tussen en is de menging met ander vet kwantitatief gebeurt? Van RIKILT zijde wordt dit beide ont- kent. De bijmenging gebeurde met reuzel dus de C 4, 6 en 8 verhouding zou constant moeten blijven.

5. Voor bespreking van de komende resultaten wordt een bijeenkomst gepland in het voorjaar van 1981.

Met dank voor ieders bijdrage en aanwezigheid sluit de voorzitter de vergadering.

Wageningen, 1980-06-05.

drs B.G. Muuse.

Mu/W.

Bijlage 2.

Voorbeeld: Omrekening van triglyceride/triglyceride naar vetzuur/vetzuur

	zuiver- heid	inweeg	faktor	vanaf C12:0 % vetzuur/ vetzuur	% vetzuur/ vetzuur
C18:1	0,9884	$\times 0,3484 = 0,3444$	$\times 0,9570 = 0,3296$	25,22	21,56
C18:0	0,9947	$\times 0,2245 = 0,2233$			
	0,0092	$\times 0,4940 = 0,0045$			
	0,0008	$\times 0,3484 = \underline{0,0003}$			
			$0,2281 \times 0,9573 = 0,2184$	16,71	14,28
C16:0	0,973	$\times 0,4940 = 0,4807$			
	0,0003	$\times 0,0985 = -$			
	0,0007	$\times 0,2245 = 0,0002$			
	0,0020	$\times 0,3484 = \underline{0,0007}$			
			$0,4816 \times 0,9528 = 0,4588$	35,10	30,00
C14:0	0,999	$\times 0,2174 = 0,2172$			
	0,0038	$\times 0,4940 = \underline{0,0319}$			
			$0,2191 \times 0,9472 = 0,2075$	15,88	13,57
C12:0	0,999	$\times 0,0985 = 0,0984$	$\times 0,9404 = 0,0925$	7,08	6,05
C10:0	0,999	$\times 0,0726 = 0,0725$	$\times 0,9315 = 0,0076$		4,42
C 8:0	0,999	$\times 0,0309 = 0,0309$	$\times 0,9191 = 0,0284$		1,86
C 6:0	0,999	$\times 0,0677 = 0,0676$	$\times 0,9016 = 0,0610$		3,99
C 4:0	0,998	$\times 0,0750 = 0,0749$	$\times 0,8741 = \underline{0,0654}$		<u>4,28</u>
			1,5292		100,0