

Side 1
ARBEIDSBESKRIVELSE
Institutt for husdyr-og akvakulturvitenskap, UMB

Metodenavn: **Fettsyresammensetning i melk.**
IHA-nr.: Arb 1130

Fengs metode

1. Innledning/hensikt.

For å kunne bestemme trans-fettsyresammensetningen, sentrifugeres melk etter Fengs metode og metyleres før trans-syrene kan bestemmes på GC med Chromeleon styringsprogram,
kolonne: Rtx- 2330, 105m, bæregass He, split 1:70.

2. Reagenser

Heptan p.a.
Methyl acetat, Fluka 45999
1M Na-metoxid: 2,3 g Na i 100 ml metanol
Oxalsyre i diethylether: 1g i 30 ml diethylether

Løsninger

2M Na-metoxid : 4,6 g Na i 100ml metanol, oppbevares i kjøleskap, blakkes over tid.

Standarder :

Stock FAME C14-C22: 100mg i 100ml heptan - 1ug/ul
TT-rør 2-3ml i frysebok 1.etg.
Holdbarhet, ca 1 år

Stock cis-11 og
trans-11 vaccensyrer: 10mg i 10ml heptan – 1ug/ul
TT-rør i fryseboks 1.etg.
Holdbarhet, ca 1 år

Stock FAME C4-C24 : 10mg/ml heptan
TT-rør i fryseboks 1. etg
Holdbarhet, ca 1 år i fryseboks

PUFA-2 , Animal Source : Fryseboks, holdbarhet ca. 1 år

3. Anbefalt utstyr

50 ml plast sentrifugerør med blå kork
Kjølesentrifuge Heraeus minifug RF
Eppendorfrør, 2 ml
Mikrosentrifuge Heraeus Biofuge

IHF/NLH					ARB	
Utarbeidet Nina P Asper og Kari Norberg	Godkjent Mars 2007	Gjelder fra Mars 2007	Revisjon Febr. - mars 2007	Erstatter Gammel ARB 1130	Dokumentnavn: ARB 1130	Side 1-3

Automatpipetter, 0-50 µl og 0-200µl
 Chromacol vials, 2ml-2SVW m/ skrukork og teflon pakninger 03F1SV, fra Teknolab
 Kolbotn

4. Spesielle merknader

Hexan er byttet ut med heptan, p.g.a. helsefare ved bruk av hexan som løsningsmiddel.

5. Prøvemateriale

20 ml fersk melk overføres til 50 ml sentrifugerør i plast og fryses ned i -20 °C fryseboks, hvis ikke prøvene kan analyseres med en gang.

Frosne prøver kan lagres i 2-3 mnd. før analysering.

6. Arbeidsbeskrivelse

Melk i sentrifugerør tines i vannbad eller står natta over i kjøleskap. Sentrifugeres på kjølesentrifuge v/ 4°C, 6000 rpm i 30 min.

Ca. 1 g av fettlokket overføres til eppendorfrør. La stå på benk i RT i ca 20 min og sentrifugeres på ultrasentrifuge, 13000 rpm i 20 min. Fettet vil da være separert i 3 lag, topplag av flytende, gult fett, midtre lag av proteiner, og vann i bunnen..

Ca 40 mg (50 µl) av fettet overføres til 10 ml sentrifugerør med skrukork, og løses i 2 ml heptan. 40µl metyl acetat tilsettes.(2,0 % lipidkonsentrasjon) Rist lett for hånd.

Metyleres så med 40µl Na-metoxid.

Mix lett på Whirley-mixer og la stå 10 min v/ RT.

Bruk stoppeklokke, så reaksjonstiden blir lik på alle prøver i samme serie.

Reaksjonen stoppes ved å tilsette 60 µl oxalsyre i diethyleter. Rist forsiktig.

Sentrifuger i 5 min på kjølesentrifugen v/ 5°C.

Supernatanten overføres til tette Chromacol vials, og prøvene er nå klare til å kjøres på CG for bestemmelse av fettsyresammensetningen.

Kolonne: Rtx- 2330, 105 m

Bæregass He: 3 ml/min

Hydrogen FID 33 ml/min

Injektor temp: 230°C

Detektor temp 250°C

2 ul injiseres, split 1:70

Temperaturprogram: Griinari JM 1998

Recovery correction med butter oil reference standard, CRM 164 eller ME61 (Larodan)

Opparbeiding av melkeprøvene gjøres på IHA, men bestemmelse av trans-fettsyrer på GC blir utført på **asVITAS** i Oslo.

IHF/NLH						ARB
Utarbeidet Nina P Asper og Kari Norberg	Godkjent Mars 2007	Gjelder fra Mars 2007	Revisjon Febr. - mars 2007	Erstatter Gammel ARB 1130	Dokumentnavn: ARB 1130	Side 2-3

IHF/NLH						ARB
Utarbeidet Nina P Asper og Kari Norberg	Godkjent Mars 2007	Gjelder fra Mars 2007	Revisjon Febr. - mars 2007	Erstatter Gammel ARB 1130	Dokumentnavn: ARB 1130	Side 3-3