МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 16931— 2014

Жиры и масла животные и растительные

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИМЕРИЗОВАННЫХ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРИНОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЭКСКЛЮЗИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ (ВЭЭХ)

(ISO 16931:2009, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» и Техническим комитетом по стандартизации Республики Казахстан ТК 72 в области нанотехнологий

2 ВНЕСЕН Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 июня 2014 г. № 45)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

(Поправка).

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 мая 2016 г. № 393-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 16931—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 16931:2009 («Жиры и масла животные и растительные. Определение содержания полимеризованных триацилглицеринов методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ)» («Animal and vegetable fats and oils — Determination of polymerized triacylglycerols by high-perfomance size-exclusion chromatography (HPSEC)», IDT).

Настоящий межгосударственный стандарт был разработан Техническим комитетом ISO/TC 34 «Пищевые продукты», Подкомитетом SC 11 «Животные и растительные жиры и масла».

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочного международного стандарта соответствующий ему межгосударственный стандарт, сведения о котором приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ИЗДАНИЕ (декабрь 2019 г.) с Поправкой (ИУС № 6—2019)

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2009 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2016, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

Жиры и масла животные и растительные

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИМЕРИЗОВАННЫХ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРИНОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЭКСКЛЮЗИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ (ВЭЭХ)

Animal and vegetable fats and oils. Determination of polymerized triacylglycerols by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC)

Дата введения — 2017—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод с использованием высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ) для определения содержания, в массовых долях, полимеризованных триацилглицеринов (PTAGs) в маслах и жирах, которые содержат не менее 3 % (по площадям пиков) этих полимеров. PTAGs (это двумерные и олигомерные триацилглицерины) образуются при нагреве жиров и масел, и этот метод применяют для оценки термической деградации обжарочных жиров после использования.

Этот метод применим к обжарочным жирам и маслам, которые были термически обработаны, при условии, что содержание PTAGs составляет не менее 3 %. Данный метод применим для определения полимеризованных триацилглицеринов в жирах для животных кормов, в этом случае используемый метод экстрагирования может повлиять на результат.

Примечание — Подробное описание метода см. в [1].

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий международный стандарт:

ISO 661, Animal and vegetable fats and oils. Preparation of test sample (Жиры и масла животные и растительные. Подготовка пробы для испытания)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **полимеризованные триацилглицерины** (polymerized triacylglycerols; PTAGs): Составляющие нагретых жиров и масел, которые определяют методом ВЭЭХ в условиях, установленных в настоящем стандарте.

Примечание — Содержание PTAGs выражается как процентная массовая доля в граммах на 100 г продукта и рассчитывается как процент площади пика от суммы площадей всех пиков, обусловленных элюированными полимеризованными и моно-, ди- и триацилглицеринами (PTAGs, MAGs, DAGs и TAGs).

4 Сущность метода

Пробу тщательно смешивают с тетрагидрофураном (THF) до образования однородной смеси, и PTAGs разделяют с применением гель-проникающей хроматографии в соответствии с молекулярным весом. Соединения проверяют с помощью рефрактометрического детектора.

Примечание — Для лучшего разрешения используют последовательно две колонки (2 × 300 мм).

Издание официальное

5 Реактивы

Используют реактивы только признанной аналитической чистоты.

Примечание — Необходимо обратить внимание на регламент, который устанавливает процедуры работы с опасными веществами. Должны соблюдаться технические, организационные и индивидуальные меры безопасности.

5.1 Тетрагидрофуран (THF) для высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC), стабилизированный бутилгидрокситолуолом (BHT), дегазированный, безводный. THF, используемый в качестве растворителя для пробы, должен иметь такое же содержание воды, как элюент; иначе может наблюдаться отрицательный пик.

5.2 Толуол для HPLC.

5.3 Оливковое масло первого холодного отжима в качестве стандартного образца: добавить от 100 до 300 мг масла к 10 $см^3$ THF и смесь гомогенизировать.

Примечание — Оливковое масло первого холодного отжима не содержит PTAGs и может быть использовано для определения времени удержания мономерных TAGs.

6 Оборудование

Используют следующее лабораторное оборудование:

6.1 Сосуд для растворителя вместимостью от 500 до 1000 $см^3$, с политетрафторэтиленовым линейным фильтром для подвижной фазы.

6.2 HPLC-насос, безимпульсный, с объемным расходом от 0,5 до 1,5 $см^3$/мин.

6.3 Инжекционный клапан с петлей 20 мкл и соответствующим шприцем объемом от 50 до 100 $мм^3$ или с соответствующей автоматической пипеткой.

6.4 Колонки из нержавеющей стали, 2 шт., длиной 300 мм, внутренним диаметром от 7,5 до 7,8 мм, наполненные гранулами высокоэффективного геля из сополимера стирола и дивинилбензола диаметром 5 мкм; размер пор от 10 до 50 нм[1)].

Примечание — Хроматограммы в приложении А показывают требуемое разрешение с двумя колонками.

Рекомендуют использование защитной колонки. Эффективность колонки, определяемая как число n теоретических тарелок для мономерных TAGs, должна быть не менее 6000.

Температуру колонки поддерживают от 30 °С до 35 °С с помощью устройства управления.

Колонку держать в токе THF. При необходимости можно хранить в толуоле (5.2).

6.5 Детектор, рефрактометрический детектор с регулируемой температурой.

Идеальная температура для детектора должна быть выше температуры колонки (от 30 °С до 35 °С).

6.6 Система хроматографических данных (CDS) обеспечивает отображение и точный количественный анализ площадей пиков.

6.7 Шприцы одноразового использования объемом 1 $см^3$.

6.8 Нейлоновые фильтры, размер пор 0,45 $мм^3$ [2)].

6.9 HPLC-шприц объемом от 50 до 100 $мм^3$.

7 Отбор проб

Проба, поступающая в лабораторию, должна быть репрезентативной и не должна быть повреждена или изменена во время транспортировки или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в настоящем стандарте.

Рекомендованный метод отбора проб приведен в [2].

---

1) 1 нм = 10 Å.

2) Nalgene 4 mm Syringe Filter является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является поддержкой этого продукта. Можно использовать аналогичные продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.

8 Приготовление пробы для испытания

Проба для испытания должна быть приготовлена согласно ISO 661.

9 Проведение испытания

9.1 Запуск HPLC-оборудования

Необходимо точно следовать рекомендациям изготовителей. Включить систему и закачать THF с объемным расходом от 0,5 до 1 мл/мин, чтобы прочистить всю систему до инжекционного клапана. Соединить колонку с инжекционным клапаном и промыть его, используя 30 $см^3$ THF.

Присоединить колонку к детекторной ячейке для пробы. Наполнить контрольную ячейку THF.

Установить скорость элюента подвижной фазы от 0,5 до 1,0 $см^3$/мин. Подождать, пока не будет получена соответствующая стабилизация системы (без существенного отклонения базовой линии).

Если используют колонку, рекомендованную в этом подразделе, приемлемая стабилизация системы наступит примерно через 15 мин. С другими наполнителями колонки стабилизация системы может быть более трудной.

Изменение подвижной фазы должно быть ступенчатым от толуола к THF, с применением различных смесей, каждая из которых содержит на 25 % больше THF. Приемлемая стабилизация наступит примерно через 12 ч.

Установлены следующие оптимальные условия:

Колонка:	PLgel[3] 10 нм, 2 × 300 мм × 7,6 мм, 5 мкм;
Элюент:	THF;
Течение:	0,8 мл/мин;
Термостат колонки:	35 °C;
Детектор:	RI (показатель преломления) установлен на 35 °C;
Инжекционный объем:	20 мкл.

9.2 Приготовление испытательного образца и анализ

Для приготовления раствора необходимо добавить пробу для испытания в количестве от 100 до 300 мг (раздел 8) к 10 $см^3$ THF и гомогенизировать. При необходимости отфильтровать через нейлоновый фильтр (6.8). Ввести HPLC-шприцем (6.9) от 20 до 40 $мм^3$ этого раствора.

10 Обработка результатов

10.1 Качественный анализ

Хроматограмма определения показывает основной пик, характерный для мономерных TAGs (относительная молекулярная масса около 900), и один или несколько меньших пиков с более коротким временем удержания, характерных для PTAGs (димеры и высшие олигомеры).

При соблюдении условий (9.1 и 9.2) TAGs и PTAGs могут быть разделены с хорошим разрешением (рисунки А.1 и А.2) даже при низких уровнях PTAGs.

В некоторых случаях (которые, очевидно, связаны со сложными явлениями деградации) картина пиков, предшествующих пикам триацилглицеринов, может быть менее четкой, с последующими трудностями для вычислений (рисунок А.2).

10.2 Количественный анализ

Вычисление проводят методом внутренней нормализации, предполагая, что все компоненты пробы, которые элюируются, имеют один и тот же коэффициент отклика. Важно иметь прямую базовую линию.

---

[3] PLgel является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO. Можно использовать аналогичные продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.

Массовую долю PTAGs, в граммах на 100 г продукта w_{PTAG}, вычисляют по формуле

$$w_{PTAG} = \frac{\sum A_{PTAG} 100}{\sum A_{tot}},$$

где A_{PTAG} — сумма площадей пиков для всех PTAGs;

A_{tot} — сумма площадей пиков для всех ацилглицеринов (PTAGs, TAGs, DAGs and MAGs).

Результаты округляют до первого десятичного знака.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Подробная информация о точности метода межлабораторных испытаний приведена в приложении В. Значения, полученные при проведении межлабораторных испытаний, не применимы к диапазонам концентраций и матрицам, кроме указанных в приложении В.

11.2 Сходимость

Если значения двух независимых результатов испытаний, полученных с использованием одного и того же метода на идентичном исследуемом материале в той же лаборатории одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени, лежат в пределах диапазона средних значений, приведенных в таблице В.1, абсолютная разница между двумя полученными результатами испытаний должна не более чем в 5 % случаев быть больше, чем предел повторяемости r, который в общем случае может быть вычислен путем линейной интерполяции из значений в таблице В.1.

11.3 Воспроизводимость

Если значения двух независимых результатов испытаний, полученных с использованием одного и того же метода на идентичном исследуемом материале в разных лабораториях разными операторами, использующими различное оборудование, лежат в пределах значений, указанных в таблице В.1, абсолютная разница между этими двумя результатами испытаний должна не более чем в 5 % случаев быть больше, чем предел воспроизводимости R, который в общем случае может быть выведен путем линейной интерполяции из значений в таблице В.1.

12 Отчет об испытании

Протокол испытаний должен содержать следующую информацию:

а) всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;

б) используемый метод отбора проб, если известно;

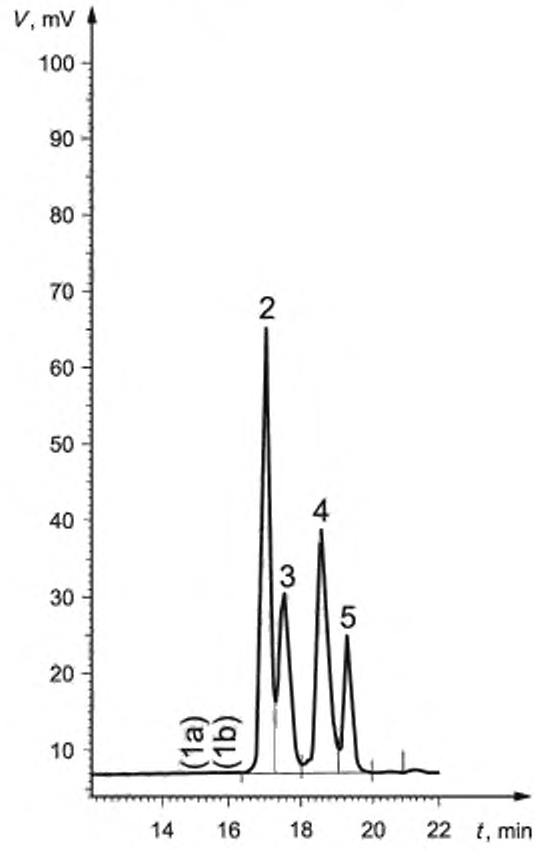
в) использованный метод испытания со ссылкой на настоящий стандарт;

г) все рабочие подробности, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как необязательные, вместе с подробностями о любых случаях, которые могут повлиять на результат(ы);

д) полученный(ые) результат(ы) или, если воспроизводимость была проверена, конечный результат.

Приложение А
(информационное)

Хроматограммы

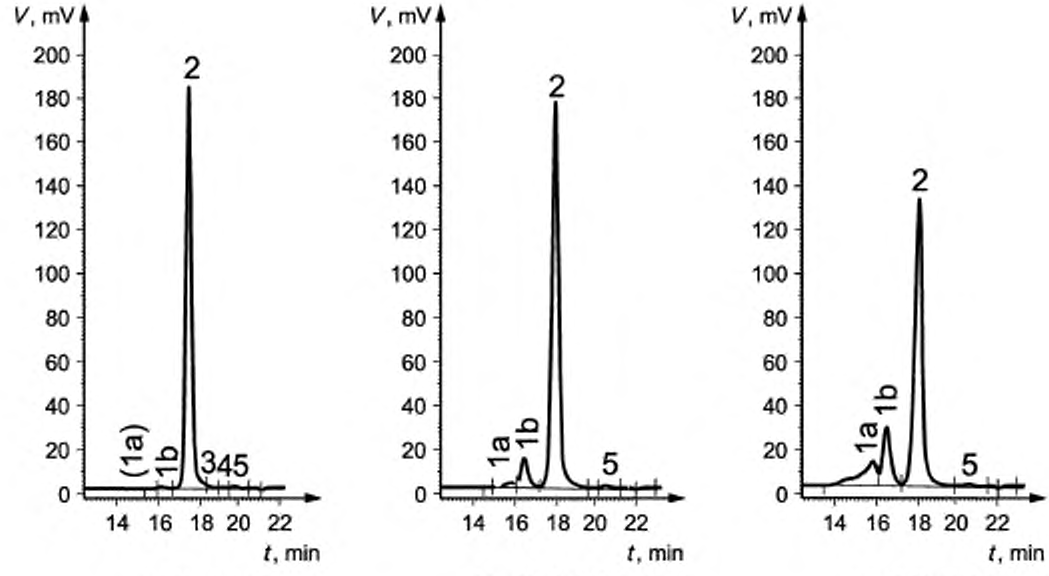


Обозначение

1a/1b	поли-/олигомерные TAGs
1b	двумерные TAGs
2	TAGs
3	DAGs
4	MAGs
5	жирные кислоты
t	время
V	отклик

Примечание — Условия указаны в 9.1.

Рисунок А.1 — ВЭЖХ испытываемой смеси TAGs, DAGs, MAGs и свободных жирных кислот



Обозначение

1a/1b	поли-/олигомерные TAGs
1b	двумерные TAGs
2	TAGs
3	DAGs
4	MAGs
5	жирные кислоты
t	время
V	отклик

Примечание 1 — Условия указаны в 9.1.

Примечание 2 — Порядок элюирования определяется молекулярным размером и относительной молекулярной массой. Во время жарки DAGs не образуются. Однако пик от DAGs увеличивается из-за окисления, обусловленного термической деградацией TAGs до TAGs с двумя фрагментами, C7 или C8, и жирной кислотой C18. Относительная молекулярная масса равна массе DAGs.

Рисунок А.2 — ВЭЖХ TAGs и PTAGs: хроматограммы обжарочных масел с различными массовыми долями PTAGs

Приложение В
(информационное)

Результаты межлабораторных испытаний

Межлабораторные испытания, проведенные на международном уровне DIN и DGF в 2007 году с участием 15 лабораторий, каждая из которых получила по два результата для каждой пробы, дали статистические результаты (оцененные согласно [3] и [4]), приведенные в таблице В.1.

Таблица В.1 — Результаты межлабораторных испытаний

Пробы используемых обжарочных масел	A	B	C	D	E
Количество лабораторий	15	15	15	15	15
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	14	15	13	15	14
Количество принятых результатов	28	30	26	30	28
Среднее, w_{PTAG}, %	5,23	11,95	12,81	15,78	20,42
Стандартное отклонение повторяемости, s_r	0,10	0,12	0,11	0,13	0,14
Коэффициент вариации повторяемости, CV(r), %	1,9	1,0	0,8	0,8	0,7
Предел повторяемости, r (2,8 s_r)	0,28	0,32	0,30	0,37	0,39
Стандартное отклонение воспроизводимости, s_R	0,22	0,20	0,19	0,26	0,15
Коэффициент вариации воспроизводимости, CV(R), %	4,1	1,7	1,4	1,6	0,7
Предел воспроизводимости, R (2,8 s_R)	0,61	0,57	0,52	0,72	0,42
Примечание — Результаты и статистика выражены в граммах на 100 граммов (процентные массовые доли).					

Приложение ДА
(информационное)

Сведения о соответствии ссылочного международного стандарта межгосударственному стандарту

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 661	IDT	ГОСТ ISO 661—2016 «Жиры и масла животные и растительные. Приготовление пробы для испытания»
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - IDT — идентичные стандарты.		

Библиография

[1] ISO 6492, Корма для животных. Определение содержания жира (Animal feeding stuffs — Determination of fat content)

[2] ISO 5555, Жиры и масла животные и растительные. Отбор проб (Animal and vegetable fats and oils — Sampling)

[3] ISO 5725-1:1994 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерения. Часть 1. Общие принципы и определения (Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions)

[4] ISO 5725-2:1994, Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерения. Часть 2. Основной метод для определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения (Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method)

[5] IUPAC Method 2.508, Определение полимеризованных триглицеридов в маслах и жирах с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа (Determination of polymerized triglycerides in oils and fats by high performance liquid chromatography. Pure Appl. Chem. 1991, 63, pp. 1168—1171. Available (2008—10—16) at: http://www.iupac.org/publications/pac/1991/pdf/6308x1163.pdf)

УДК 665.2/.3:543 МКС 67.200.10

Ключевые слова: жиры, масла, полимеризование, триацилглицерин, метод, хроматография

Редактор *А.Е. Минкина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 02.12.2019. Подписано в печать 06.12.2019. Формат 60×84 1/8 Гарнитура Ариал
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,48.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ ISO 16931—2014 Жиры и масла животные и растительные. Определение содержания полимеризованных триацилглицеринов методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ)

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Предисловие. Таблица согласования	—	Узбекистан | UZ | Узстандарт

(ИУС № 6 2019 г.)

gost.e-ecolog.ru