МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 12228-1— 2025

ЖИРЫ И МАСЛА ЖИВОТНЫЕ И РАСТИТЕЛЬНЫЕ

Определение состава и общего содержания стеролов. Метод газовой хроматографии

Часть 1

(ISO 12228-1:2014, Determination of individual and total sterols contents — Gas chromatographic method — Part 1: Animal and vegetable fats and oils, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2025

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 Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт жиров» (ВНИИЖиров)

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации ТК 238 «Масла растительные и продукты их переработки»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 апреля 2025 г. № 184-П)

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	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узбекское агентство по техническому регулированию

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 июня 2025 г. № 574-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 12228-1—2025 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 мая 2026 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 12228-1:2014 «Определение состава и общего содержания стеролов. Метод газовой хроматографии. Часть 1. Жиры и масла животные и растительные» («Determination of individual and total sterols contents — Gas chromatographic method — Part 1: Animal and vegetable fats and oils», IDT).

Международный стандарт разработан Подкомитетом SC 11 «Жиры и масла животные и растительные» Технического комитета ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие ему межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 Некоторые элементы настоящего стандарта могут быть объектом патентных прав. Международная организация по стандартизации (ISO) не несет ответственности за идентификацию какого-либо или всех патентных прав

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, 2014
© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2025



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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 1
4 Сущность метода 1
5 Реактивы 2
6 Оборудование 2
7 Проба 3
8 Проведение испытания 3
9 Обработка результатов 4
10 Прецизионность 6
11 Протокол испытания 6
Приложение А (справочное) Рисунки 7
Приложение В (справочное) Межлабораторные испытания 14
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам 21
Библиография 22

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 состава и общего содержания стеролов. Метод газовой хроматографии

Часть 1

Animal and vegetable fats and oils. Determination of individual and total sterols contents. Gas chromatographic method. Part 1

Дата введения — 2026—05—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод газохроматографического определения содержания и состава стеролов в животных и растительных жирах и маслах. Определение содержания и состава стеролов в оливковом масле и масле из выжимок оливок проводят в соответствии с ISO 12228-2.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты [для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения)]:

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

ISO 3696, Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **состав стеролов:** Состав индивидуальных стеролов в пробе, начиная с холестерола и заканчивая Δ7-авенастеролом (см. таблицу 1), определенный в условиях, указанных в настоящем стандарте.

Примечание — Состав выражают в процентах от суммы площадей всех пиков, принятых за 100 %.

3.2 **общее содержание стеролов:** Массовая доля суммы всех индивидуальных стеролов, определенная в соответствии с методом, указанным в настоящем стандарте, начиная с холестерола и заканчивая Δ7-авенастеролом (см. таблицу 1), деленная на массу испытуемой пробы.

Примечание — Содержание выражают в миллиграммах на килограмм жира.

4 Сущность метода

Испытуемую пробу омыляют раствором гидроксида калия в этаноле при кипячении с обратным холодильником. Неомыляемые вещества отделяют твердофазной экстракцией на колонке с оксидом алюминия. Колонку с оксидом алюминия используют для удержания анионов жирных кислот; стеролы проходят через колонку. Фракцию стеролов отделяют от неомыляемых веществ с помощью тонкослойной хроматографии. Качественный и количественный состав фракции стеролов определяют методом газовой хроматографии, используя холестанол или бетулин в качестве внутреннего стандарта.

Издание официальное

5 Реактивы

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Следует обращать внимание на правила, определяющие работу с опасными веществами. Необходимо соблюдать технические, организационные меры и меры личной безопасности.

Используют только реактивы признанной аналитической степени чистоты, если не указано иное, и воду, соответствующую классу 3 по ISO 3696.

5.1 Гидроксид калия (KOH), раствор в этаноле, с молярной концентрацией с (KOH) приблизительно 0,5 моль/дм^3.

3 г гидроксида калия растворяют в 5 см^3 воды и доводят объем раствора этанолом (5.3) до 100 см^3. Раствор должен быть бесцветным или соломенного цвета.

5.2 Раствор внутреннего стандарта, холестанол (5α-холестан-3β-ол) или бетулин, раствор в этаноле с объемной долей 1,0 мг/ см^3 (см. примечание к 5.10).

Примечание — Для гидрогенизированных масел, которые могут содержать холестанол, рекомендуется использовать бетулин (пик 17 в таблице 1).

5.3 Этанол с минимальной объемной долей φ = 95 %.

5.4 Оксид алюминия нейтральный, размер частиц от 0,063 до 0,200 мм, класс активности I (содержание воды = 0 %).

5.5 Диэтиловый эфир, свежеперегнанный, не содержащий перекисей и осадка.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Диэтиловый эфир легко воспламеняется и может образовывать взрывоопасные перекиси. Пределы взрываемости в воздухе составляют от 1,7 % до 48 % (объемная доля). При его использовании следует соблюдать особые меры предосторожности. Хранить вдали от источников тепла и солнечного света.

5.6 Пластины с силикагелем для тонкослойной хроматографии (ТСХ), коммерчески доступные, размеры 20 × 20 см, толщина слоя 0,25 мм.

5.7 Элюирующий растворитель, гексан/диэтиловый эфир. Объемная доля каждого растворителя составляет 50 см^3/100 см^3.

5.8 Стандартный раствор для тонкослойной хроматографии, объемная доля холестерола/холестанола 1,0 мг/см^3 в ацетоне или бетулина — 5,0 мг/см^3 в ацетоне.

Примечание 1 — Холестерол и холестанол имеют одинаковое значение Rf (0,35) в ТСХ, тогда как значение Rf для бетулина составляет 0,30 (см. рисунок А.1).

Примечание 2 — Для гидрогенизированных масел, которые могут содержать холестанол, рекомендуется использовать бетулин (пик 17 в таблице 1).

5.9 Реагент для опрыскивания, метанол.

5.10 Силилирующий реактив, приготовленный добавлением 50 мкл 1-метилимидазола к 1 см^3 N-метил-N-(триметилсилил)гепта-фторбутирамида (MSHFBA).

Примечание — В продаже имеются готовые реактивы. Другие реактивы для силилирования, например бис-триметилсилил-трифторацетамид с 1 % триметилхлорсилана, также доступны и могут применяться, если в качестве внутреннего стандарта используют холестанол. Однако в отношении бетулина принимают специальные меры предосторожности, чтобы гарантировать силилирование обеих гидроксильных групп бетулина. В противном случае бетулин может иметь два пика на хроматограмме.

6 Оборудование

Используют стандартное лабораторное оборудование и, в частности, следующее.

6.1 Колбы круглодонные вместимостью 25 и 50 см^3, со шлифом.

6.2 Холодильник обратный со шлифом для установки в колбу (6.1).

6.3 Колонка стеклянная с пробкой из политетрафторэтилена (ПТФЭ), фильтром из пористого стекла, вместимостью 100 см^3, длиной 25 см, внутренним диаметром 1,5 см.

6.4 Испаритель ротационный, снабженный вакуумным насосом и водяной баней, поддерживающей температуру 40 °С.

6.5 Резервуар стеклянный для элюирования с притертой стеклянной крышкой, пригодный для использования пластин размером 20 × 20 см.

6.6 Микрошприц вместимостью 100 мкл.

6.7 Термостат, поддерживающий температуру (105 ± 3) °С.

6.8 Эксикатор с эффективным осушителем для хранения пластин.

6.9 Виалы реакционные вместимостью от 0,3 до (1,0—1,5) $см^3$ с винтовыми крышками и тефлоновым уплотнителем для приготовления производных стеролов.

6.10 Газовый хроматограф для капиллярных колонок с инжектором для ввода проб с делением потока, пламенно-ионизационным детектором и подходящим регистратором.

6.11 Колонка капиллярная, изготовленная из плавленого кварца или стекла, длиной от 25 до 60 м, внутренним диаметром от 0,20 до 0,25 мм, неподвижная фаза SE-54 (или эквивалентная неполярная фаза с температурным пределом не менее 280 °С — 300 °С); толщина пленки приблизительно 0,1 мкм.

Примечание — Лучшее разрешение пиков достигается при толщине пленки 0,1 мкм.

6.12 Микрошприц для газовой хроматографии для введения проб объемом 1 мкл.

6.13 Весы аналитические, позволяющие взвешивать с точностью до 0,001 г и с ценой деления 0,0001 г.

7 Проба

7.1 Отбор проб

Отбор проб не является предметом метода, приведенного в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в ISO 5555 [1].

Важно, чтобы в лабораторию была доставлена репрезентативная проба. которая не была повреждена или изменена во время транспортирования или хранения.

7.2 Приготовление пробы для испытания

Готовят пробу для испытания в соответствии с ISO 661.

8 Проведение испытания

8.1 Подготовка колонки с оксидом алюминия

Готовят суспензию 10 г оксида алюминия (5.4) в 20 $см^3$ этанола (5.3) и выливают взвесь в стеклянную колонку (6.3). Дают оксиду алюминия осесть и растворителю стечь из колонки до тех пор, пока уровень растворителя не достигнет верхнего уровня слоя оксида алюминия.

8.2 Навеска

Взвешивают с точностью до 1 мг приблизительно 250 мг испытуемой пробы в колбе вместимостью 25 $см^3$ (6.1) и продолжают по 8.3.

Для жиров и масел с низким содержанием стеролов (например, менее 2000 мг на килограмм) или по другим причинам массу испытуемой пробы следует увеличить в три раза. Соответственно вносят корректировки для реактивов и используемого оборудования.

8.3 Экстракция неомыляемых веществ

К навеске (8.2) добавляют точно 1,00 $см^3$ раствора внутреннего стандарта (5.2). Добавляют 5 $см^3$ спиртового раствора гидроксида калия (5.1) и несколько гранул («кипелок») для предотвращения выброса содержимого. Вставляют обратный холодильник (6.2) в колбу и поддерживают содержимое в состоянии слабого кипения в течение 15 мин. Прекращают нагревание. Немедленно добавляют к горячему содержимому колбы 5 $см^3$ этанола (5.3) и перемешивают или встряхивают до гомогенизации.

Пипеткой вносят 5 $см^3$ этого раствора в подготовленную колонку с оксидом алюминия (8.1). Элюат собирают в круглодонную колбу вместимостью 50 $см^3$ (6.1) и дают стекать до тех пор, пока уровень растворителя не достигнет верхнего уровня слоя оксида алюминия. Неомыляемые вещества элюируют сначала 5 $см^3$ этанола (5.3), а затем 30 $см^3$ диэтилового эфира (5.5) со скоростью потока примерно 2 $см^3$/мин. Растворители из колбы удаляют с помощью ротационного испарителя (6.4).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Для этой процедуры необходима колонка с оксидом алюминия. Ее не допускается заменять колонками с диоксидом кремния или другими колонками, или экстракцией растворителем.

8.4 Тонкослойная хроматография

Неомыляемые вещества, полученные по 8.3, растворяют в небольшом количестве (приблизительно 0,5 $см^3$) диэтилового эфира (5.5). Раствор наносят на пластинку линией на расстоянии 2 см от нижнего края пластины ТСХ (5.6) с помощью микрошприца (6.6). Оставляют зазор не менее 3 см от каждого бокового края пластины. Наносят 5 мкл стандартного раствора ТСХ (5.8) в виде пятна на расстоянии 1,5 см от края пластины. В резервуар для элюирования (6.5) наливают примерно 100 $см^3$ элюирующего растворителя (5.7). Пластину помещают в резервуар и элюируют до тех пор, пока растворитель не достигнет ее верхнего края. Пластину вынимают из резервуара и дают растворителю испариться в вытяжном шкафу.

Примечание — Количественный перенос материала (8.3) на пластину ТСХ на этом этапе не требуется. Допускается использовать автоматическое устройство для нанесения полос. Насыщения камеры не требуется.

8.5 Выделение стеролов

Опрыскивают пластины метанолом (5.9) до тех пор, пока зоны стерола (и бетулина) не станут белыми на полупрозрачном (более темном) фоне. Холестанол является частью зоны Δ5-стерола (см. рисунок А.1). Размечают зоны на высоте пятен стандартного раствора на 2 мм выше и на 4 мм ниже видимых зон (см. рисунок А.1). Полностью соскребают эту часть слоя с помощью шпателя и количественно собирают силикагель в небольшой стакан.

Примечание 1 — Более широкое поле у нижнего края видимых зон (4 мм против 2 мм у верхнего края) — это мера предосторожности, чтобы избежать частичной потери бетулина на этом этапе. В подсолнечном масле можно обнаружить три полосы (Δ5-стеролы, Δ7-стеролы и бетулин).

Примечание 2 — Бетулин, если его используют в качестве внутреннего стандарта, появляется немного ниже зоны стеролов (см. рисунок А.1).

К собранному силикагелю добавляют 0,5 $см^3$ этанола. Силикагель экстрагируют в стакане трижды порциями по 5 $см^3$ диэтилового эфира (5.5) и фильтруют в колбу (6.1). Объединенные эфирные экстракты упаривают на ротационном испарителе (6.4) примерно до 1 $см^3$ и переносят оставшийся раствор в реакционную виалу (6.9). Выдувают растворитель из виалы потоком азота.

8.6 Получение триметилсилиловых эфиров стеролов

Добавляют 100 мкл реактива для силилирования (5.10) в реакционную виалу (6.9), содержащую выделенные стеролы. Закрывают виалу и нагревают ее в течение 15 мин в термостате при температуре (105 ± 3) °С. Дают виале остыть до комнатной температуры и вводят раствор непосредственно в газовый хроматограф (6.10).

8.7 Газовая хроматография

Оптимизируют температурную программу и скорость потока газа-носителя так, чтобы полученные хроматограммы были подобны хроматограммам на рисунках А.2—А.7. Проверяют разделение с помощью фракций силилированных стеролов, полученных из известных масел, как показано на рисунках А.2—А.7.

Примечание 1 — Следующие параметры были протестированы и признаны подходящими (см. хроматограммы в приложении А): колонка для газовой хроматографии: SE-54, длина 50 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,10 мкм; газ-носитель H_2, скорость потока газа-носителя 36 см/с, разделение 1:20, детектор/инжектор 320 °С, температурный режим от 245 °С до 265 °С со скоростью 5 °С/мин, изотерма при температуре 265 °С в течение 40 мин; объем вводимой пробы — 1 мкл. Допускается использовать капиллярные колонки эквивалентного качества.

Примечание 2 — Для проверки времени удерживания допускается использовать стандартный раствор, содержащий холестерол, кампестерол, стигмастерол и ситостерол. Используют холостой анализ для проверки на возможное загрязнение (например, холестеролом) от растворителей, стеклянных стенок, фильтров, отпечатков пальцев и т. д.

9 Обработка результатов

9.1 Идентификация стеролов

Для идентификации стеролов, присутствующих в испытуемой пробе, определяют относительное время удерживания (RRT) путем деления времени удерживания (RT) рассматриваемого стерола на RT холестерола и/или бетулина. В таблице 1 приведены RRT различных стеролов, вычисленные относительно холестерола (RRT_C) и бетулина (RRT_B), с использованием стационарной фазы SE-54.

Примечание — Значения RRT в таблице 1 (определенные в условиях, указанных в примечании 1 к 8.7) приведены только как вспомогательные для идентификации индивидуальных стеролов и для иллюстрации последовательности элюирования (см. также рисунок А.1). Фактическое значение RRT может несколько отличаться от RRT, приведенного в таблице 1, поскольку RRT зависит от условий проведения испытания (тип и длина колонки для газожидкостной хроматографии, температурный режим и качество стационарной фазы).

9.2 Состав стеролов

Массовую долю w_i индивидуального стерола i, г/100 г (%), вычисляют по формуле

$$w_i = \frac{A_i}{\sum A} \cdot 100, \quad (1)$$

где A_i — площадь пика стерола i;

$\sum A$ — сумма площадей пиков всех стеролов (пики 1, 3—16 или 1—16, если используют бетулин).

Таблица 1 — Газохроматографическая идентификация пиков индивидуальных стеролов и бетулина с помощью RRT (стационарная фаза SE-54)

№ пика	Обычные наименования стеролов	Систематические наименования стеролов	RRT_C	RRT_B
1	Холестерол	Холест-5-ен-3β-ол	1,00	0,44
2	Холестанол	5α-Холестан-3β-ол	1,02	0,45
3	Брассикастерол	[24S]-24-Метилхолеста-5,22-диен-3β-ол	1,09	0,48
4	24-Метиленхолестерол	24-Метиленхолеста-5,24-диен-3β-ол	1,21	0,53
5	Кампестерол	[24R]-24-Метилхолест-5-ен-3β-ол	1,23	0,54
6	Кампестанол	[24R]-24-Метилхолестан-3β-ол	1,25	0,55
7	Стигмастерол	[24S]-24-Этилхолеста-5,22-диен-3β-ол	1,31	0,57
8	Δ7-Кампестерол	[24R]-24-Метилхолест-7-ен-3β-ол	1,38	0,59
9	Δ5,23-Стигмастадиенол	[24R,S]-24-Этилхолеста-5,23-диен-3β-ол	1,40	0,60
10	Клеростерол	[24S]-24-Этилхолест-5,25-диен-3β-ол	1,42	0,62
11	Ситостерол	[24R]-24-Этилхолест-5-ен-3β-ол	1,47	0,64
12	Ситостанол	[24R]-24-Этилхолестан-3β-ол	1,59	0,65
13	Δ5-Авенастерол	[24Z]-24(28)-Этилиденхолест-5-ен-3β-ол	1,52	0,66
14	Δ5,24-Стигмастадиенол	[24R,S]-24-Этилхолеста-5,24-диен-3β-ол	1,59	0,69
15	Δ7-Стигмастенол	[24R,S]-24-Этилхолест-7-ен-3β-ол	1,65	0,72
16	Δ7-Авенастерол	[24Z]-24(28)-Этилиденхолест-7-ен-3β-ол	1,70	0,74
X	(Эритродиол)		2,03	0,88
Y	(Уваол)		2,17	0,95
17	Бетулин	Lup-20[29]-ене-3β,28-диол	2,30	1,0

RRT_C — относительное время удерживания по холестеролу = 1,00.

RRT_B — относительное время удерживания по бетулину = 1,00.

Примечание — Ситостерол может элюировать вместе с α-спинастеролом и Δ7,22,25-стигмастатриенолом. [24R]-24-этилхолеста-7,25(27)-диен-3β-ол присутствует в стеролах подсолнечного и тыквенного масел и может коэлюировать с пиком 14 (Δ5,24-стигмастадиенол).

9.3 Определение общего содержания стеролов

Для целей данного метода предполагается, что коэффициенты отклика всех стеролов и бетулина равны.

Примечание — В ходе нескольких испытаний силилированные стеролы и силилированный бетулин в равных количествах дали одинаковый отклик детектора при использовании пламенно-ионизационного детектора в этих условиях.

Общее содержание стеролов w, мг/кг жира, вычисляют по формуле

$$w = \frac{\Sigma(A) \cdot m_{IS} \cdot 1000}{A_{IS} \cdot m}, \quad (2)$$

где m_{IS} — масса внутреннего стандарта (холестанола), внесенного в пробу, мг;

$\Sigma(A)$ — сумма площадей пиков всех стеролов (пики 1, 3—16 или 1—16, если используют бетулин);

A_{IS} — площадь пика внутреннего стандарта;

m — масса навески, г.

Для вычисления общего содержания стеролов рассматривают все пики стеролов, начиная с холестерола и заканчивая Δ7-авенастеролом (пик 16), но без эритродиола и уваола (пики X и Y).

10 Прецизионность

10.1 Межлабораторные испытания

Подробная информация о межлабораторных испытаниях для оценки прецизионности метода приведена в приложении В. Значения, полученные в результате этих межлабораторных испытаний, могут быть неприменимы к диапазонам концентраций и матрицам, отличающимся от приведенных.

10.2 Предел повторяемости

Предел повторяемости r — это число, меньшее или равное значению абсолютного расхождения между двумя результатами испытаний, полученными в условиях повторяемости, с вероятностью 95 %.

Условия повторяемости — это условия, при которых независимые результаты испытаний получены одним и тем же методом на идентичных испытуемых объектах в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования в течение коротких промежутков времени.

10.3 Предел воспроизводимости

Предел воспроизводимости R — это число, меньшее или равное значению абсолютного расхождения между двумя результатами испытаний, полученными в условиях воспроизводимости, с вероятностью 95 %.

Условия воспроизводимости — это условия, при которых независимые результаты испытаний получены одним и тем же методом на идентичных испытуемых объектах испытаний в разных лабораториях разными операторами, использующими разное оборудование в течение коротких промежутков времени.

11 Протокол испытания

Протокол испытаний должен содержать следующее:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;

b) использованный метод отбора проб, если он известен;

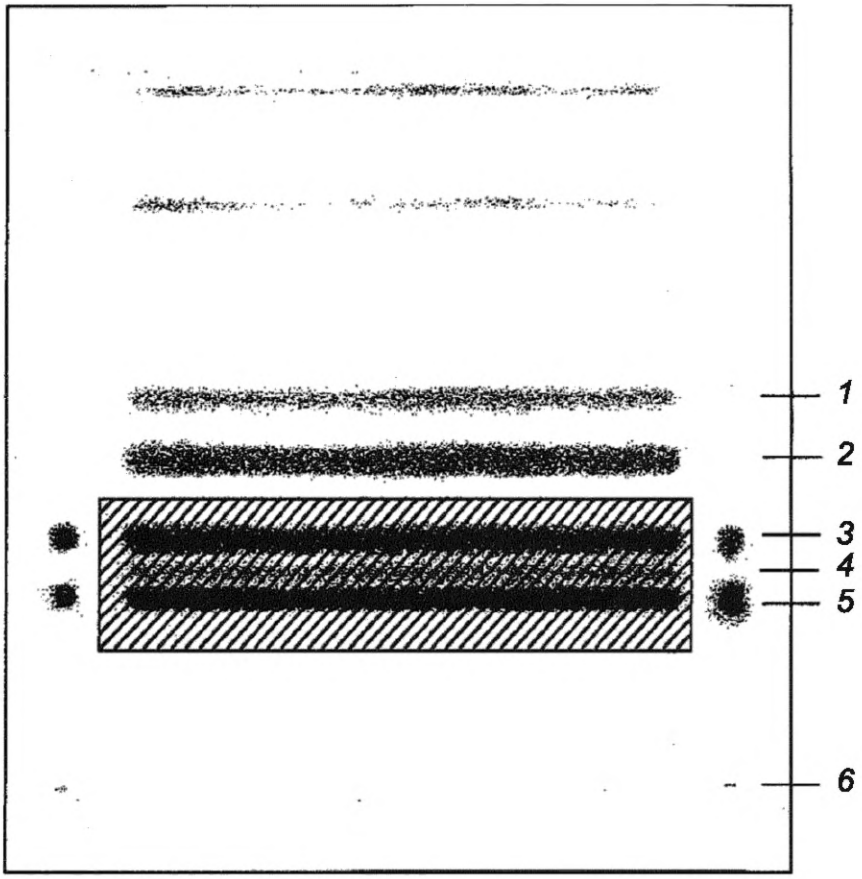
c) использованный метод испытаний со ссылкой на настоящий стандарт;

d) все рабочие детали, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как необязательные, вместе с подробностями любых случаев, которые могли повлиять на результат(ы) испытания;

e) полученные результаты испытаний или окончательный результат, если соблюдены условия повторяемости.

Приложение А
(справочное)

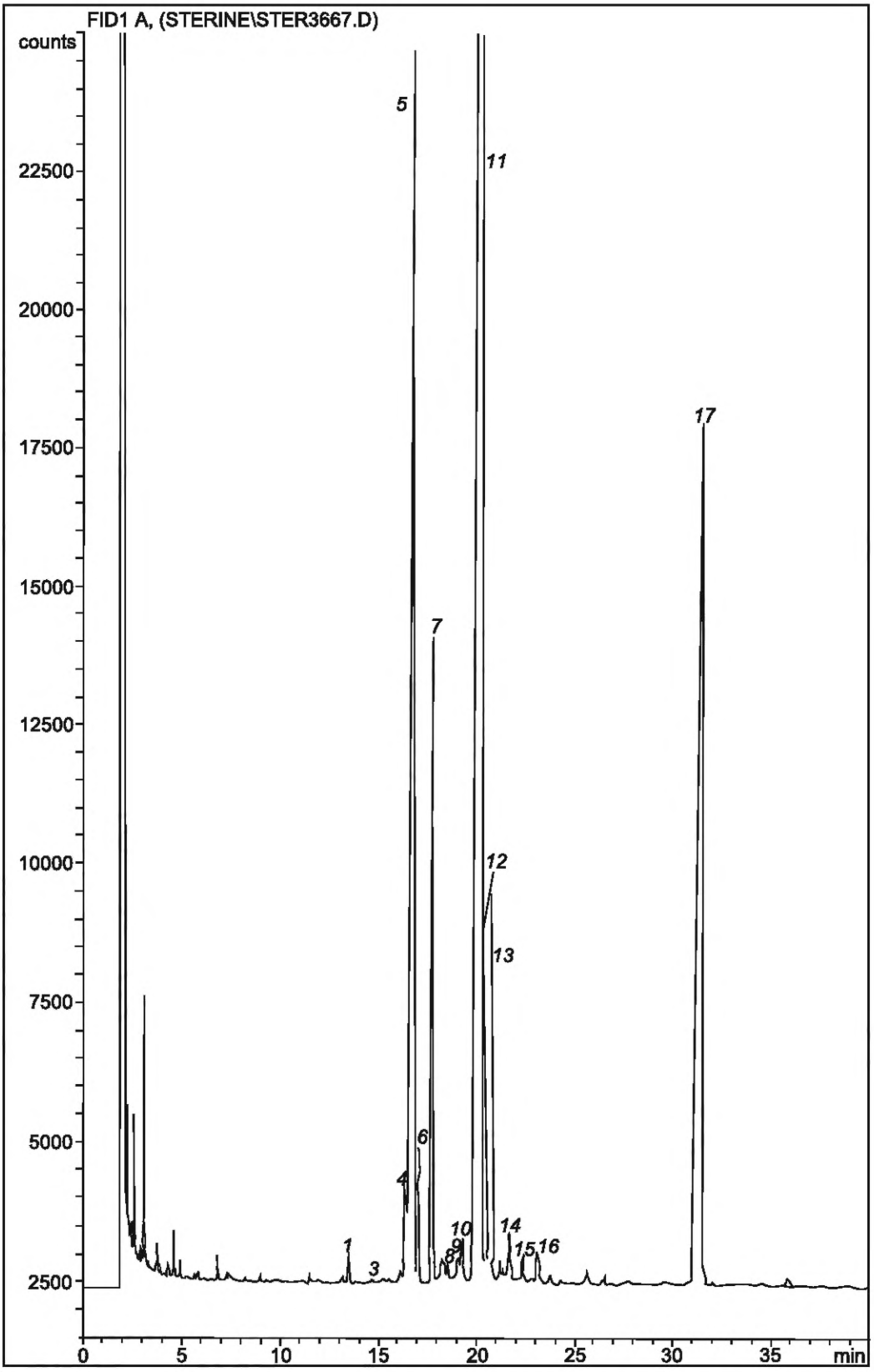
Рисунки



Примечание — Зоны проявляются белыми на прозрачном фоне. Заштрихованная область соскоблена; следует обратить внимание на более широкое поле внизу (4 мм против 2 мм вверху). Значения Rf полос: бетулин — 0,30; Δ7-стеролы — 0,33; Δ5-стеролы — 0,35; метилстеролы — 0,45; тритерпены — 0,53.

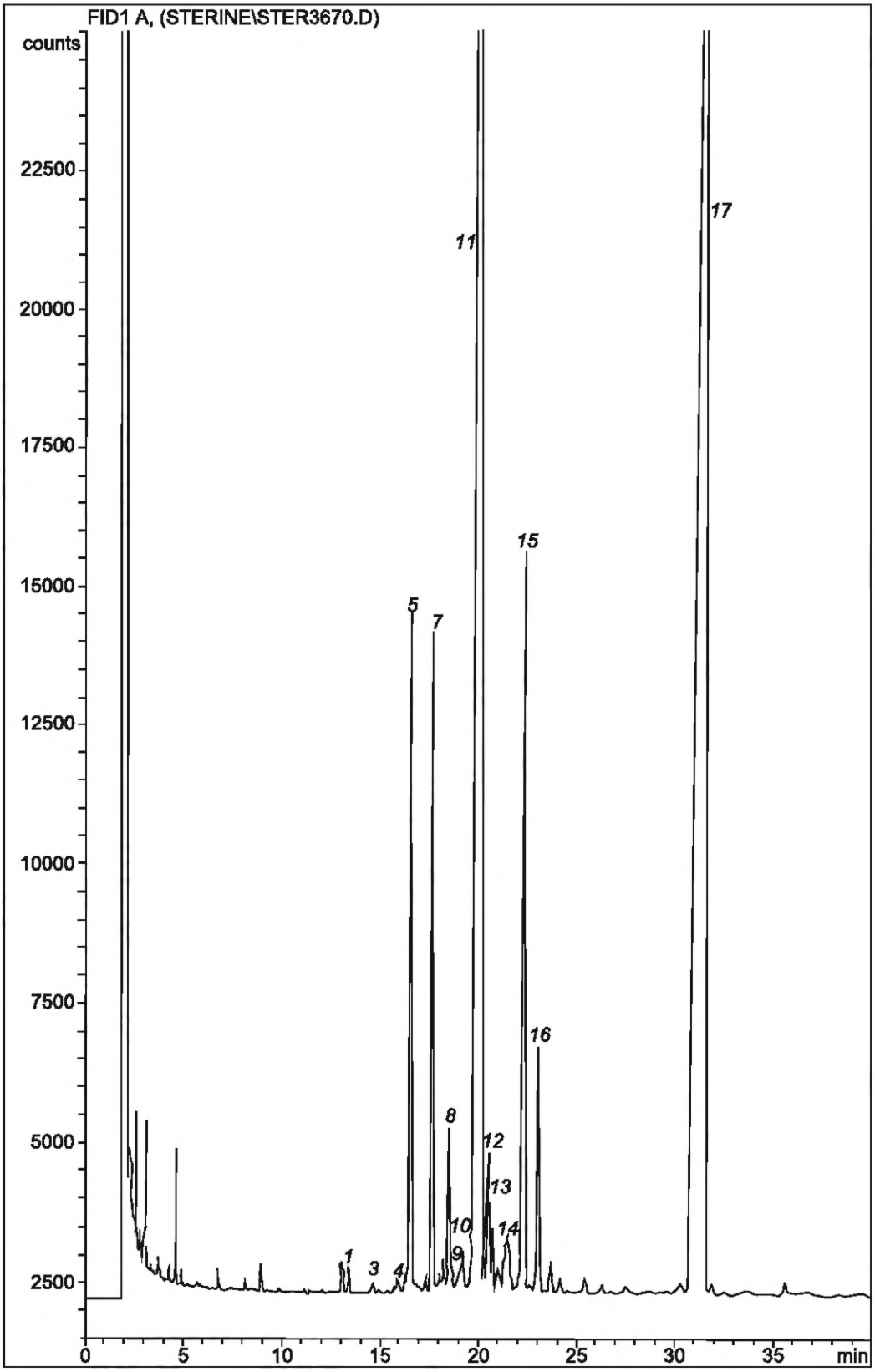
1 — тритерпены; *2* — метилстеролы; *3* — холестанол и Δ5-стеролы; *4* — Δ7-стеролы; *5* — бетулин; *6* — стартовая линия

Рисунок А.1 — Выделение стеролов методом ТСХ из неомыляемых веществ (этапы 8.3 и 8.4)



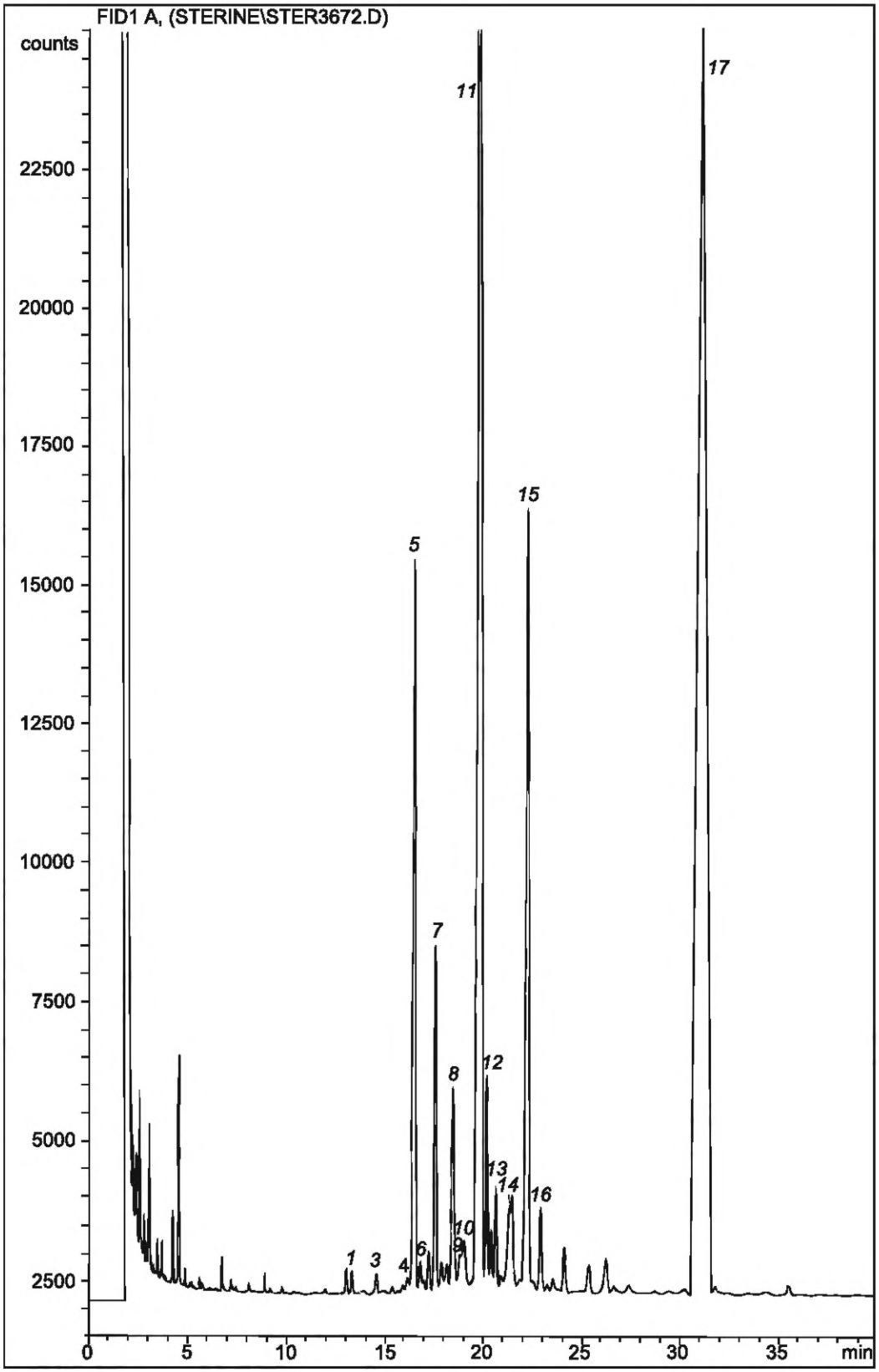
Примечание — Идентификацию номеров пиков проводят в соответствии с таблицей 1. Условия — как указано в примечании 1 к 8.7.

Рисунок А.2 — ГЖХ-хроматограмма стеролов из кукурузного масла (проба А)



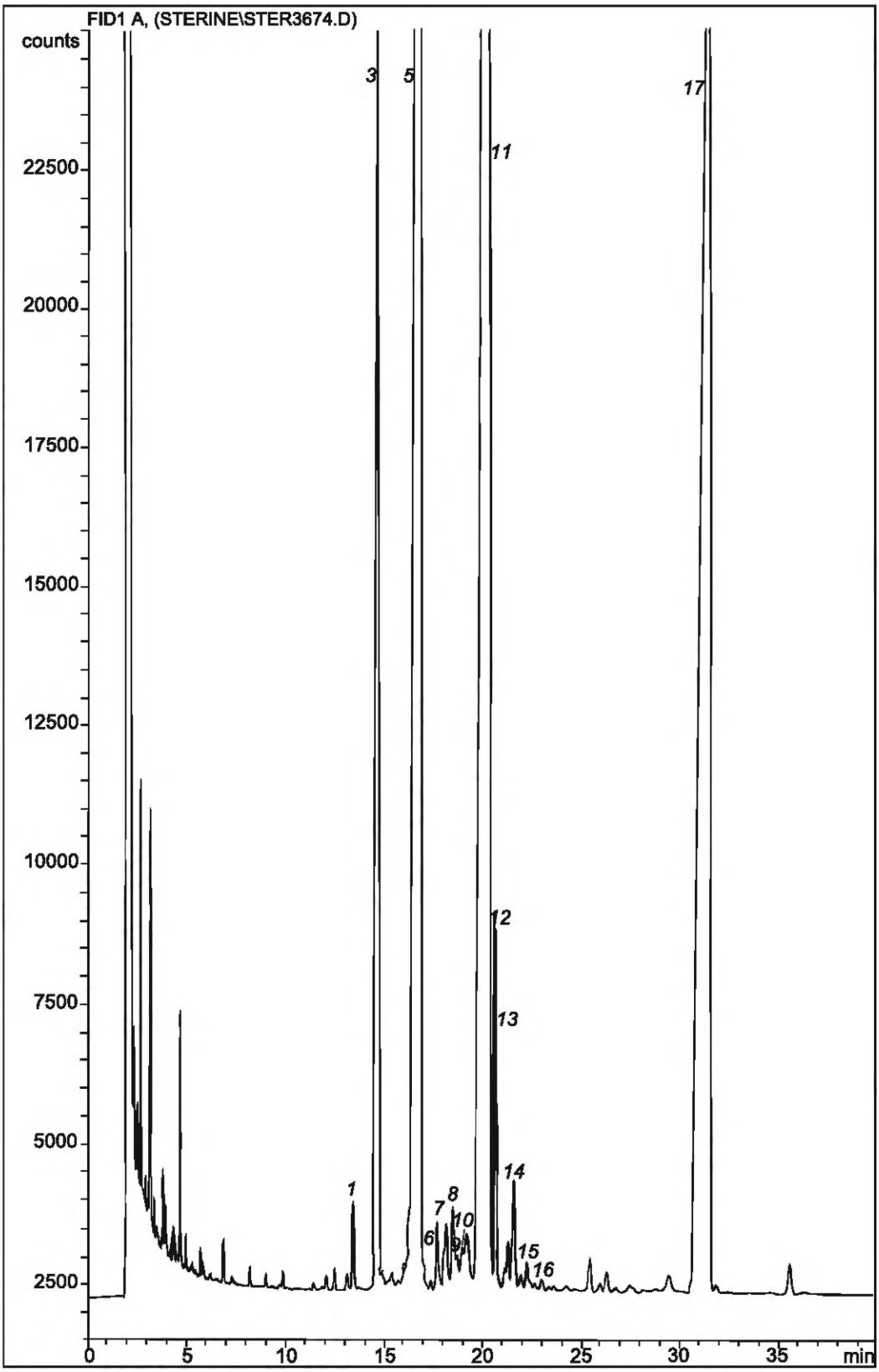
Примечание — Идентификацию номеров пиков проводят в соответствии с таблицей 1. Условия — как указано в примечании 1 к 8.7.

Рисунок А.3 — ГЖХ-хроматограмма стеролов из рафинированного подсолнечного масла (проба В)



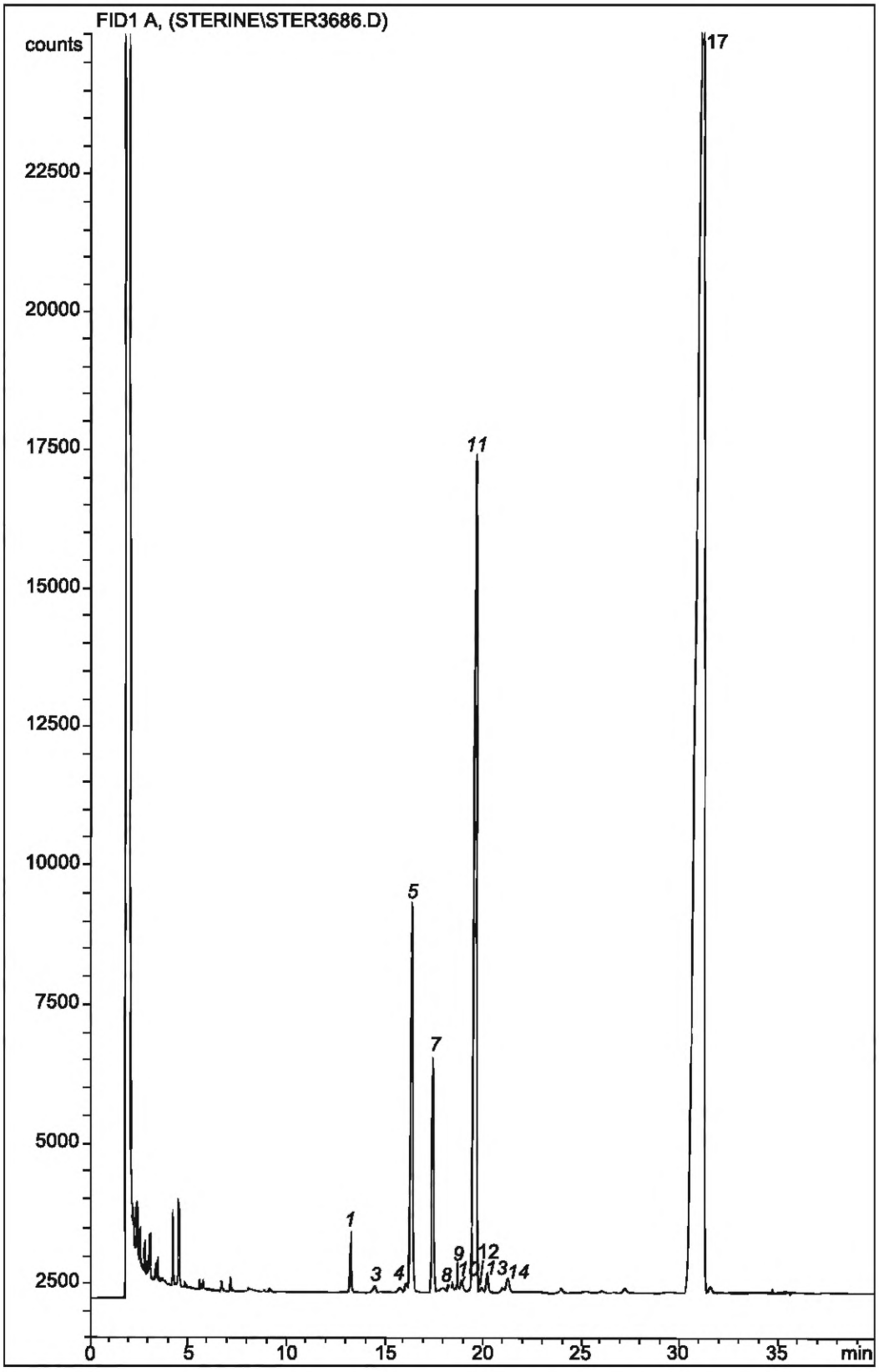
Примечание — Идентификацию номеров пиков проводят в соответствии с таблицей 1. Условия — как указано в примечании 1 к 8.7.

Рисунок А.4 — ГЖХ-хроматограмма стеролов из рафинированного сафлорового масла (проба С)



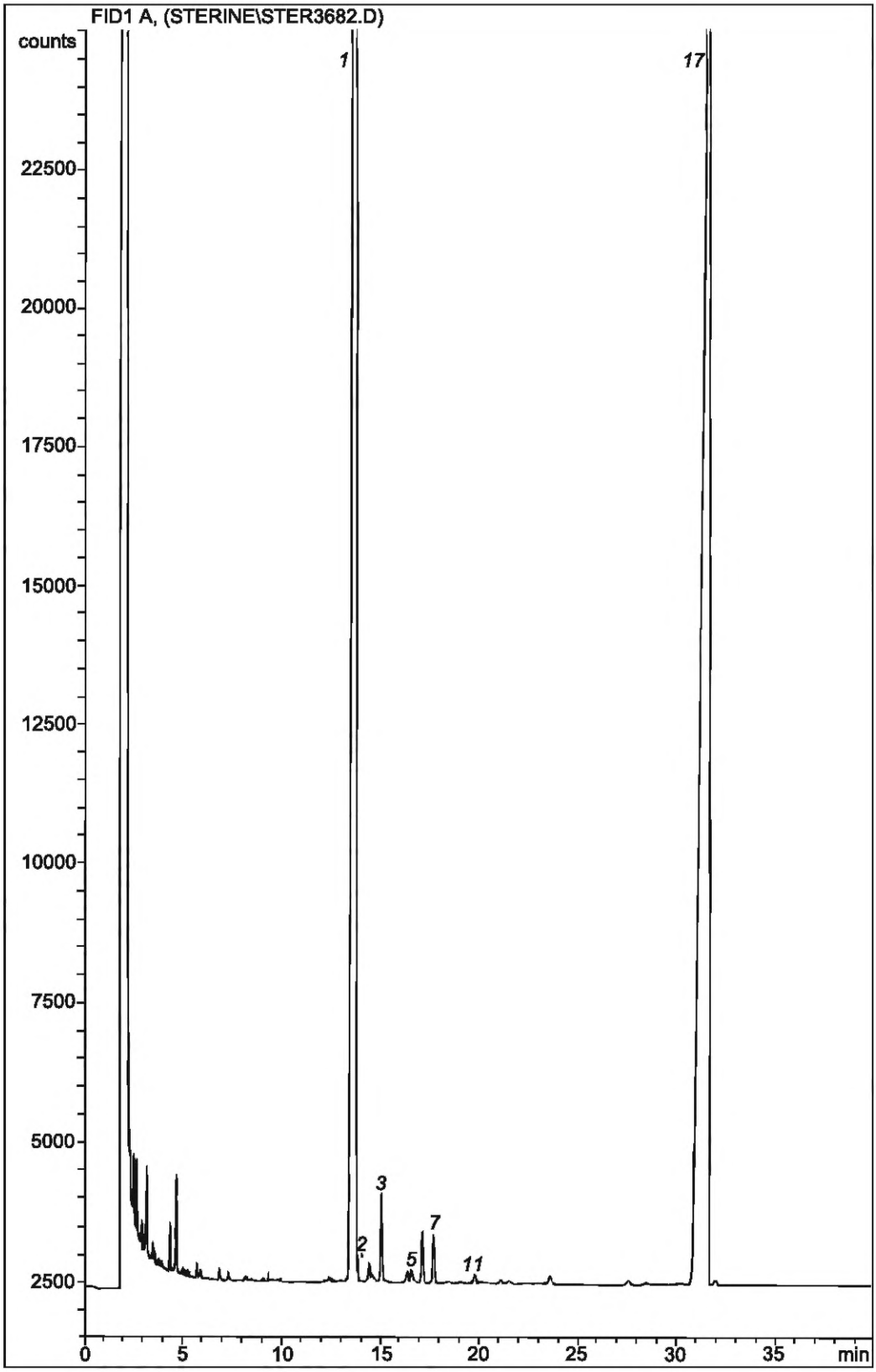
Примечание — Идентификацию номеров пиков проводят в соответствии с таблицей 1. Условия — как указано в примечании 1 к 8.7.

Рисунок А.5 — ГЖХ-хроматограмма стеролов из рафинированного рапсового масла (проба D)



Примечание — Идентификацию номеров пиков проводят в соответствии с таблицей 1. Условия — как указано в примечании 1 к 8.7.

Рисунок А.6 — ГЖХ-хроматограмма стеролов из рафинированного пальмового масла (проба Е)



Примечание — Идентификацию номеров пиков проводят в соответствии с таблицей 1. Условия — как указано в примечании 1 к 8.7.

Рисунок А.7 — ГЖХ-хроматограмма стеролов из сливочного масла (проба F)

Приложение В
(справочное)

Межлабораторные испытания

Прецизионность метода была подтверждена двумя международными межлабораторными испытаниями, организованными Германией в 2011/2012 и 1996/1997 годах. Статистическую оценку проводили в соответствии с [2] и [3].

Обозначение пробы:

A — рафинированное кукурузное масло;
B — рафинированное подсолнечное масло;
C — рафинированное сафлоровое масло;
D — рафинированное рапсовое масло;
E — рафинированное дезодорированное отбеленное пальмовое масло (RDB);
F — сливочное масло.

Таблица В.1 — Статистические результаты по определению общего содержания стеролов (мг/кг)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012						1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	F	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	11	12	13	11	12	12	14	13
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	22	24	26	22	24	24	28	26
Среднее значение m, мг/кг	8384,9	3355,5	2447,8	7365,2	607,0	2551,8	3785	7585
Стандартное отклонение повторяемости s_r	121,4	49,3	85,2	154,6	32,1	117,5	165,6	174,6
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	1,4	1,5	3,5	2,1	5,3	4,6	4,4	2,3
Предел повторяемости r	339,8	138,1	238,7	432,9	89,8	328,9	463,7	489,0
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	1797,8	317,7	313,4	418,5	84,0	434,6	542,4	762,7
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	21,4	9,5	12,8	5,7	13,8	17,0	14,3	10,1
Предел воспроизводимости R	5034,0	889,6	877,4	1171,7	235,3	1216,9	1518,7	2135,5

Таблица В.2 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: холестерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012						1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	F	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	12	13	13	11	11	13	12	14
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	24	26	26	22	22	26	24	28
Среднее значение m, мг/кг	0,22	0,28	0,57	0,36	3,34	97,69	0,40	0,40
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,04	0,10	0,06	0,03	0,33	0,25	0,05	0,08
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	16,0	34,7	10,9	8,3	9,8	0,3	11,5	18,3

Окончание таблицы В.2

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012						1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	F	B	D
Предел повторяемости r	0,10	0,27	0,17	0,08	0,92	0,71	0,13	0,22
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,05	0,17	0,39	0,10	1,57	1,07	0,21	0,15
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	23,3	60,6	68,1	28,2	47,1	1,1	52,4	34,1
Предел воспроизводимости R	0,14	0,47	1,09	0,29	4,41	2,99	0,58	0,41

Таблица В.3 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: брассикастерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14			14		14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	14		14			13	13
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	28			28		26	26
Среднее значение m, мг/кг	0,04			10,4		0,09	10,80
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,04			0,15		0,068	0,14
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	88,2			1,5		0,190	0,38
Предел повторяемости r	0,11			0,43		80,289	1,26
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,05			0,36		0,089	0,26
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	118,6			3,5		104,9	2,4
Предел воспроизводимости R	0,14			1,00		0,25	0,72

Таблица В.4 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: сумма 24-метиленхолестерола и кампестерола (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	13	13	12	14	11	11	13
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	26	26	24	28	22	22	26
Среднее значение m, мг/кг	20,67	9,22	12,28	35,39	22,68	9,0	37,50
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,11	0,16	0,17	0,25	0,34	2,3	0,19
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	0,5	1,8	1,4	0,7	1,5	0,6	0,5
Предел повторяемости r	0,32	0,46	0,48	0,70	0,95	0,58	0,54
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,44	0,58	0,46	0,57	0,66	0,26	0,35
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	2,1	6,3	3,7	1,6	2,9	2,9	0,9
Предел воспроизводимости R	1,23	1,62	1,28	1,60	1,85	0,72	0,97

Таблица В.5 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: кампестерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13		
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	13	14	12	14	10		
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	26	28	24	28	20		
Среднее значение m, мг/кг	20,67	8,99	11,95	34,86	22,33		
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,11	0,18	0,08	0,25	0,19		
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	0,5	2,0	0,7	0,7	0,9		
Предел повторяемости r	0,32	0,51	0,23	0,71	0,53		
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,44	0,59	0,64	0,74	0,69		
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	2,1	6,6	5,4	2,1	3,1		
Предел воспроизводимости R	1,23	1,65	1,80	2,07	1,92		

Таблица В.6 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: кампестанол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	11	10	13	12	8	10	12
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	22	20	26	24	16	20	24
Среднее значение m, мг/кг	1,36	0,13	0,41	0,14	0,00	0,1	0,2
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,03	0,03	0,04	0,03	0,00	0,03	0,06
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	2,2	24,3	10,7	20,4	0,00	35,1	32,8
Предел повторяемости r	0,08	0,09	0,12	0,08	0,00	0,09	0,16
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,17	0,15	0,20	0,11	0,00	0,13	0,18
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	12,4	1117,6	47,7	79,3	0,00	147,5	106,0
Предел воспроизводимости R	0,47	0,43	0,55	0,31	0,00	0,37	0,50

Таблица В.7 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: стигмастерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	14	13	12	13	12	13	13
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	28	26	24	26	24	26	26
Среднее значение m, мг/кг	7,05	7,84	5,28	0,30	11,28	8,10	0,30
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,07	0,10	0,12	0,04	0,30	0,11	0,05

Окончание таблицы В.7

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	0,9	1,3	2,4	13,1	2,7	1,4	15,5
Предел повторяемости r	0,18	0,28	0,35	0,11	0,85	0,31	0,15
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,18	0,61	0,36	0,08	0,95	0,25	0,10
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	2,5	7,7	6,9	25,3	8,4	3,0	30,9
Предел воспроизводимости R	0,49	1,70	1,02	0,21	2,66	0,69	0,29

Таблица В.8 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: Δ7-кампестерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	14	14	14	13	11	14	14
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	28	28	28	28	22	28	28
Среднее значение m, мг/кг	0,39	2,28	3,77	0,71	0,13	1,60	0,30
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,06	0,20	0,20	0,08	0,04	0,15	0,05
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	15,5	8,9	5,2	11,00	29,1	9,4	17,4
Предел повторяемости r	0,17	0,57	0,55	0,2	0,11	0,43	0,15
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,20	0,35	0,50	0,29	0,18	0,91	0,15
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	51,1	15,3	13,3	40,5	138,3	56,2	50,1
Предел воспроизводимости R	0,55	0,98	1,40	0,81	0,51	2,56	0,43

Таблица В.9 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: Δ5,23-стигмастадиенол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	14	12	13	14	12	14	14
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	28	24	26	28	24	28	28
Среднее значение m, мг/кг	0,35	0,24	0,76	0,25	0,17	1,2	0,5
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,03	0,04	0,07	0,04	0,04	0,14	0,06
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	9,4	14,6	8,6	16,7	20,7	11,6	11,9
Предел повторяемости r	0,09	0,10	0,18	0,12	0,10	0,39	0,16
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,16	0,18	0,29	0,11	0,23	0,94	0,15
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	44,9	73,8	37,5	44,4	132,6	78,5	31,7
Предел воспроизводимости R	0,44	0,50	0,80	0,31	0,63	2,62	0,42

Таблица В.10 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: клеростерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	14	14	14	13	12	10	12
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	28	28	28	26	24	20	24
Среднее значение m, мг/кг	0,76	0,92	1,10	0,56	0,48	0,07	0,2
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,08	0,08	0,17	0,06	0,05	0,022	0,03
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	9,9	8,5	15,0	9,9	9,5	34,4	16,5
Предел повторяемости r	0,21	0,22	0,46	0,16	0,13	0,063	0,08
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,14	0,15	0,34	1,40	0,42	0,101	0,20
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	18,1	16,5	31,1	25,1	88,1	156,0	114,6
Предел воспроизводимости R	0,39	0,42	0,96	0,40	1,18	0,284	0,56

Таблица В.11 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: β-ситостерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	12	12	11	12	10	13	14
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	24	24	22	24	20	26	28
Среднее значение m, мг/кг	2,84	0,52	3,02	0,25	0,40	57,0	44,3
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,07	0,11	0,13	0,04	0,00	0,41	0,22
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	2,4	20,4	4,5	16,3	0,0	0,7	0,5
Предел повторяемости r	0,19	0,30	0,38	0,11	0,00	1,15	0,63
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,42	0,26	0,53	0,19	0,45	1,42	0,73
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	14,7	49,6	17,5	76,2	111,8	2,5	1,7
Предел воспроизводимости R	1,17	0,72	1,48	0,53	1,25	3,99	2,05

Таблица В.12 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: Δ5-авенастерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	12	13	13	13	11	12	13
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	24	26	26	26	22	24	26
Среднее значение m, мг/кг	4,46	2,12	1,66	1,65	1,23	4,7	4,9
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,13	0,07	0,15	0,15	0,19	0,13	0,11

Окончание таблицы В.12

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	3,0	3,5	9,2	9,3	15,2	2,70	2,20
Предел повторяемости r	0,37	0,21	0,43	0,43	0,52	0,36	0,30
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,31	0,77	1,09	0,22	0,28	0,68	0,33
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	7,0	36,4	65,7	13,5	22,6	14,43	6,75
Предел воспроизводимости R	0,88	2,16	3,05	0,63	0,78	1,90	0,93

Таблица В.13 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: Δ5,24-стигмастадиенол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	12	13	13	13	12	11	13
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	24	26	26	26	24	22	26
Среднее значение m, мг/кг	0,80	1,12	3,57	1,65	0,90	1,40	0,50
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,07	0,15	0,22	0,15	0,09	0,06	0,08
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	8,8	13,8	6,2	9,3	10,4	4,1	15,9
Предел повторяемости r	0,20	0,43	0,62	0,43	0,26	0,16	0,23
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,11	0,30	1,09	0,22	0,55	0,25	0,16
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	13,5	27,1	30,6	13,5	61,0	17,7	31,2
Предел воспроизводимости R	0,30	0,85	3,06	0,63	1,53	0,69	0,46

Таблица В.14 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: Δ7-стигмастерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	13	13	13	12	11	11	12
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	26	26	26	24	22	22	24
Среднее значение m, мг/кг	0,60	13,23	16,71	0,16	0,18	10,9	0,1
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,04	0,33	0,48	0,04	0,08	0,12	0,09
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	7,4	2,5	2,9	25,8	43,9	1,1	79,1
Предел повторяемости r	0,12	0,91	1,36	0,11	0,22	0,33	0,25
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,40	1,47	1,48	0,08	0,27	0,21	0,11
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	66,5	11,1	8,9	53,3	150,9	2,0	96,3
Предел воспроизводимости R	1,11	4,12	4,15	0,24	0,77	0,60	0,30

Таблица В.15 — Статистические результаты по определению содержания индивидуальных стеролов: Δ7-авенастерол (%)

Межлабораторные испытания, организованные в	2011/2012					1996/1997	
Проба	A	B	C	D	E	B	D
Количество участвующих лабораторий	14	14	14	14	13	14	14
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	14	13	13	14	10	12	13
Количество результатов, полученных от всех лабораторий	28	26	26	28	28	24	26
Среднее значение m, мг/кг	0,56	3,82	1,45	0,07	0,01	4,9	0,1
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,07	0,24	0,10	0,03	0,00	0,14	0,04
Коэффициент вариации повторяемости CV_r, %	12,7	6,2	7,0	43,4	0,0	2,8	31,9
Предел повторяемости r	0,20	0,66	0,28	0,09	0,00	0,38	0,11
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,25	0,66	0,56	0,05	0,03	0,35	0,10
Коэффициент вариации воспроизводимости CV_R, %	45,4	17,2	38,5	77,7	316,2	7,1	78,6
Предел воспроизводимости R	0,71	1,84	1,56	0,15	0,09	0,93	0,27

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

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»
ISO 3696	IDT	ГОСТ ISO 3696—2013* «Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля»

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичный стандарт.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

Библиография

[1] ISO 5555:2001 Animal and vegetable fats and oils — Sampling

[2] ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions

[3] ISO 5725-2:1994 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

УДК 543.062:006.354 МКС 67.200.10 IDT

Ключевые слова: животные жиры, растительные масла, стеролы, определение состава, газовая хроматография

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 20.06.2025. Подписано в печать 24.06.2025. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,70.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru