ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 18363-1— 2019

ЖИРЫ И МАСЛА ЖИВОТНЫЕ И РАСТИТЕЛЬНЫЕ

Определение содержания сложных эфиров жирных кислот монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с применением ГХ/МС

Часть 1

Метод с использованием быстрой щелочной переэтерификации и измерения содержания 3-МХПД и дифференциальное измерение содержания глицидола

(ISO 18363-1:2015, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Некоммерческой организацией «Ассоциация производителей и потребителей масложировой продукции» на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

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

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 декабря 2019 г. № 1408-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 18363-1:2015 «Животные и растительные жиры и масла. Определение содержания сложных эфиров жирных кислот монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с помощью ГХ/МС. Часть 1. Метод с использованием быстрой щелочной переэтерификации и измерения 3-МХПД и дифференциальное измерение глицидола» [ISO «Animal and vegetable fats and oils — Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS — Part 1: Method using fast alkaline transesterification and measurement for 3-MCPD and differential measurement for glycidol», IDT].

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

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© ISO, 2015 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2020

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 2
5 Реактивы 2
6 Оборудование 3
7 Образец 4
8 Процедура 4
9 Представление результатов 5
10 Точность 6
11 Протокол испытаний 6
Приложение А (справочное) Результаты межлабораторного испытания 7
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочного международного стандарта национальному стандарту 8
Библиография 9

Введение

ИСО 18363 представляет собой серию международных стандартов, которые могут быть использованы для определения содержания сложных эфиров жирных кислот монохлорпропандиола (МХПД) и глицидола. В настоящее время имеются три международных стандарта, и данное введение является описанием методов, которые могут быть использованы специалистами для определения того, какие методы являются наиболее подходящими. Подробное описание применения каждого метода содержится в разделе области применения соответствующего метода.

Международный стандарт ИСО 18363 состоит из следующих частей под общим названием «Животные и растительные жиры и масла. Определение содержания сложных эфиров жирных кислот монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с применением ГХ/МС»:

- часть 1. Метод с использованием быстрой щелочной переэтерификации и измерения содержания 3-МХПД и дифференциальное измерение содержания глицидола;
- часть 2. Метод с использованием медленной щелочной переэтерификации и измерение содержания 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола;
- часть 3. Метод с использованием кислотной переэтерификации и измерение содержания 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола.

Данная часть международного стандарта ИСО 18363 представляет собой дифференциальный метод, эквивалентный стандарту DGF C-VI 18 (10) и идентичный официальному методу AOCS Cd 29c-13. Кратко: в основе метода лежит быстрое щелочное каталитическое выделение 3-МХПД и глицидола из производных сложных эфиров. Затем глицидол преобразуется в 3-МХПД. Метод состоит из двух частей. Первая часть (А) позволяет определить сумму связанного эфира 3-МХПД и связанного эфира глицидола, тогда как вторая часть (В) определяет только связанный эфир 3-МХПД. Оба определения основаны на выделении анализируемых соединений 3-МХПД и глицидола из формы связанного эфира с применением алкоголиза с щелочным катализатором, проводимым при комнатной температуре. В части А подкисленный раствор хлорида натрия используется для прекращения реакции и последующего преобразования глицидола в 3-МХПД. Таким образом, в части А 3-МХПД и глицидол становятся неразличимыми. В части В реакция прекращается добавлением подкисленного свободного от хлора соляного раствора, который также предотвращает превращение глицидола в МХПД. Таким образом, часть В позволяет определить действительное содержание 3-МХПД. Наконец, содержание глицидола в образце пропорционально разности обоих определений (А, В) и может быть вычислено после определения коэффициента преобразования глицидола в 3-МХПД. Данная часть международного стандарта ИСО 18363 применима для быстрого определения связанного эфира 3-МХПД и глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах и жирах. Данная часть международного стандарта ИСО 18363 может также применяться к животным жирам, а также к маслам и жирам после жарки, но перед анализом данных образцов необходимо провести валидационное исследование. Любые свободные определяемые соединения, содержащиеся в образце, будут включены в результаты, так как эталон не позволяет различать свободные и связанные определяемые соединения. Однако по состоянию на момент публикации исследования не показали каких-либо доказательств содержания свободного определяемого соединения столь же высокого, как содержание этерифицированного определяемого соединения в растительных маслах и жирах. Данная часть международного стандарта ИСО 18363 может быть изменена таким образом, чтобы определение 2-МХПД стало возможным, однако перед анализом данного соединения необходимо провести валидационное исследование.

Вторая часть международного стандарта для определения связанных эфиров МХПД и глицидола представляет собой официальный метод AOCS Cd 29b-13. Кратко: он основан на медленном щелочном высвобождении МХПД и глицидола из сложных эфиров. Затем глицидол преобразуется в 3-МБПД. Вторая часть предлагаемых международных стандартов подразумевает подготовку двух образцов, которые отличаются по использованным внутренним стандартам. Обе части могут использоваться для определения связанных эфиров 2-МХПД и 3-МХПД. В части А определяется предварительный результат для связанного эфира глицидола. Поскольку 3-МХПД, присутствующий в образце, будет в какой-то степени преобразован в глицидол при приготовлении образца, часть В служит для количественного определения величины глицидола, который затем вычитается из предварительного количества глицидола, полученного в части А. Используя меченные изотопами свободные изомеры-МХПД в пробе А и меченные изотопами связанные эфиры 2-МХПД и 3-МХПД в части В, можно контролировать эффективность расщепления сложного эфира. Оба определения, А и В, основаны на выделении определяемых соединений 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола из связанной (этерифицированной) формы медленным ал-

коголизом с щелочным катализатором в холодных условиях. При подготовке обоих образцов реакцию останавливают добавлением подкисленного концентрированного раствора бромида натрия, чтобы превратить нестабильный и летучий глицидол в 3-МБПД, который демонстрирует свойства, сопоставимые с 3-МХПД в отношении его стабильности и хроматографических характеристик. Кроме того, основной избыток ионов бромида предотвращает нежелательное образование 3-МХПД из глицидола в случае с образцами, которые содержат определенное природное количество хлорида. Вторая часть международного стандарта применима для определения связанных эфиров 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах и жирах. Вторая часть стандарта может также применяться для животных жиров и использованных масел и жиров после жарки, но перед анализом этих образцов необходимо провести валидационное исследование. Любые свободные определяемые соединения, содержащиеся в образце, будут включены в результаты, но стандарт не позволяет различать свободные и связанные определяемые соединения. Однако по состоянию на момент публикации исследования не показали каких-либо доказательств содержания свободного определяемого соединения столь же высокого, как содержание этерифицированного определяемого соединения в растительных маслах и жирах.

Третья часть международного стандарта для определения связанного эфира МХПД и глицидола представляет собой официальный метод AOCS Cd 29a-13. Кратко: он основан на превращении глицидиловых сложных эфиров в эфиры 3-МБПД и медленном кислотном каталитическом высвобождении МХПД и МБПД из сложных эфиров. Третья часть стандарта основана на подготовке одного образца, в котором сложные глицидиловые эфиры превращаются в моноэфиры МБПД, а затем свободные определяемые соединения 2-МХПД, 3-МХПД и 3-МБПД высвобождаются медленным алкоголизом с кислотным катализатором. 3-МБПД представляет собой реальное содержание связанного глицидола. Третья часть международного стандарта может применяться для определения связанных эфиров 3-МХПД, 2-МХПД, а также глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах и жирах. Третья часть стандарта может применяться к животным жирам, а также к маслам и жирам после жарки, но перед анализом этих образцов необходимо провести валидационное исследование. Данный метод подходит для анализа связанных (этерифицированных) определяемых соединений, но при необходимости третья часть предлагаемых международных стандартов может быть также выполнена без первоначального преобразования глицидиловых эфиров. В таком случае результаты будут включать как свободные, так и связанные формы 2-МХПД и 3-МХПД, а количество свободных соединений может быть рассчитано как разница между двумя результатами, обнаруженными в обоих определениях. Однако по состоянию на момент публикации исследования не показали каких-либо доказательств содержания свободного определяемого соединения столь же высокого, как содержание этерифицированного определяемого соединения в растительных маслах и жирах.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ЖИРЫ И МАСЛА ЖИВОТНЫЕ И РАСТИТЕЛЬНЫЕ

Определение содержания сложных эфиров жирных кислот монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с применением ГХ/МС

Часть 1

Метод с использованием быстрой щелочной переэтерификации и измерения содержания 3-МХПД и дифференциальное измерение содержания глицидола

Animal and vegetable fats and oils.Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS. Part 1. Method using fast alkaline transesterification and measurement for 3-MCPD and differential measurement for glycidol

Дата введения — 2020—02—01

1 Область применения

В настоящем стандарте описывается процедура прямого определения сложных эфиров 3-МХПД (связанного 3-МХПД) и возможного свободного 3-МХПД после расщепления сложного эфира с щелочным катализатором и получения производных соединений с использованием фенилборной кислоты (ФБК). Кроме того, настоящий стандарт позволяет косвенно определять сложные глицидиловые эфиры (связанный глицидол), предполагая отсутствие других веществ, которые вступают в реакцию при комнатной температуре с неорганическим хлоридом и образуют 3-МХПД.

Настоящий стандарт применим для твердых и жидких жиров и масел. Молоко и молочные продукты (или жиры, получаемые из молока и молочных продуктов) не входят в область применения настоящего стандарта.

2 Нормативные ссылки

Настоящий стандарт содержит нормативные ссылки на следующие документы или их части, которые необходимы для его применения. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного документа. Для недатированных — последнее издание (включая все изменения к нему):

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 термины с соответствующими определениями.

3.1 **связанный 3-МХПД** (bound 3-MCPD): Сумма всех производных 3-МХПД, расщепленных алкоголизом с щелочным катализатором (особенно эфиры жирных кислот) в соответствии с методом стандарта.

Примечание 1 — 3-МХПД выражается в виде массовой доли, в миллиграммах на килограмм (мг/кг).

Примечание 2 — В жирах и маслах количество свободного 3-МХПД, которое может образоваться, обычно ничтожно мало, но влияет на результат.

3.2 **связанный глицидол** (bound glycidol): Сумма всех производных глицидола, расщепляемых в процессе алкоголиза с щелочным катализатором (особенно эфиры жирных кислот) в соответствии с методом стандарта.

Примечание 1 — Содержание глицидола выражается в виде массовой доли в миллиграммах на килограмм (мг/кг).

Примечание 2 — Наличие свободного глицидола в жирах и маслах маловероятно из-за нестабильности данного соединения.

Издание официальное

4 Сущность метода

Для определения суммы связанного 3-МХПД и связанного глицидола в виде свободного 3-МХПД (проба А) навеску образца с внесенным внутренним стандартом в виде d_5-3-МХПД-1,2-бис-пальмитоилового эфира растворяют в трет-бутилметиловом эфире (МТБЭ). Добавление разбавленного раствора гидроксида натрия или метилата натрия в метаноле высвобождает свободный 3-МХПД и свободный глицидол. Данную реакцию останавливают добавлением избыточного количества кислого раствора хлорида натрия. В кислых условиях свободный глицидол реагирует с неорганическим хлоридом с получением дополнительного 3-МХПД и небольшого количества 2-МХПД. Нежелательные неполярные соединения в образце удаляют путем двойной экстракции водной фазы изогексаном. Определяемое соединение вместе с внутренним стандартом переводят в органическую фазу путем многократной экстракции водной фазы диэтиловым эфиром, этилацетатом или смесью обоих растворителей. Образование производных веществ происходит в органической фазе путем реакции с ФБК. Для удаления избытка ФБК определяемые вещества концентрируют и переносят в инертный органический растворитель, после чего проводят обработку небольшим количеством безводного сульфата натрия и испаряют досуха в потоке азота перед окончательным перерастворением в изооктане для измерения газовым хроматографом/масс-спектрометром (ГХ/МС). Для определения связанного 3-МХПД во вторую навеску образца (проба В) вносят внутренний стандарт в виде d_5-3-МХПД-1,2-бис-пальмитоилового эфира и растворяют в МТБЭ. При добавлении разбавленного раствора гидроксида натрия или метилата натрия в метаноле высвобождаются свободный 3-МХПД и свободный глицидол. Данную реакцию останавливают добавлением избыточного количества кислого солевого раствора, не содержащего хлор (например, сульфата натрия, сульфата аммония, бромида натрия). В кислых условиях, без хлора, свободный глицидол преобразуется в различные продукты в зависимости от используемой соли, но не образует дополнительного количества 3-МХПД. Дальнейшая подготовка и измерение образца выполняют согласно описанию для пробы А.

Для расчета связанного глицидола разность обоих определений (пробы А и В) умножается на нестехиометрический коэффициент, отражающий преобразование глицидола в 3-МХПД. Данная процедура основана на предположении, что разница между определениями обусловлена только исключительным наличием глицидиловых эфиров.

Количественную оценку содержания определяемых веществ проводят с использованием внутреннего стандарта в виде d_5-3-МХПД-1,2-бис-пальмитоилового эфира. В связи с этим никакого контроля полноты расщепления сложного эфира не требуется. Согласно данному методу периодически выполняют калибровку определяемого вещества, необходимую для определения линейности метода, степени извлечения и, в случае определения связанного глицидола, для определения коэффициента преобразования. Если метод не подвергается изменениям, ежедневную калибровку проводить не требуется.

Образцы, которые содержат только 3-МХПД и не содержат глицидола, демонстрируют более низкие значения (приблизительно от 2 % до 10 %) при использовании процедуры В по сравнению с процедурой А. Разница обусловлена изотопным эффектом в процедуре В. Данный эффект может быть определен путем внесения незагрязненного образца масла с равными количествами 3-МХПД-1,2-бис-дипальмитоилового эфира и d_5-3-МХПД-1,2-бис-пальмитоилового эфира перед делением образца на две навески. Затем навески анализируют трижды в соответствии с процедурами А и В. Из определений можно рассчитать поправочный коэффициент, который является отношением результатов процедур А и В. Также в присутствии связанного глицидола проявляется изотопный эффект.

Поскольку 3-МХПД может возникать в некоторых полимерах, используемых при мокром отверждении эпоксидных смол и для других целей, рекомендуется ежедневно анализировать холостую пробу, чтобы избежать нежелательного загрязнения. В качестве холостой пробы может использоваться масло, которое не содержит 3-МХПД или глицидол, например растительное масло первого отжима. Загрязнение может также происходить с расходными материалами, например виалами с винтовыми колпачками или фильтром. Устранить эту проблему можно прокаливанием лабораторной посуды при температуре от 400 °С до 500 °С. Лучшим решением является использование незагрязненных материалов.

5 Реактивы

5.1 Общие положения

Предупреждение — Следует обратить внимание на правила, регламентирующие обращение с опасными веществами. Следует соблюдать технические, организационные и личные меры безопасности.

Если не указано иное, то используются реактивы чистые для анализа; вода должна соответствовать классу 3 стандарта ИСО 3696.

5.2 Стандартные и эталонные соединения

5.2.1 Рабочий раствор внутреннего стандарта: d_5-3-МХПД-1,2-бис-пальмитоилового эфира (например, 26,87 мкг/мл в толуоле, эквивалент 5,0 мкг/мл свободного 3-МХПД); или могут использоваться другие типичные d_5-3-МХПД-1,2-бис-эфиры.

5.2.2 3-МХПД-1,2-бис-пальмитоиловый эфир (26,6 мкг/мл в толуоле, эквивалент 5,0 мкг/мл свободного 3-МХПД); или могут быть использованы другие типичные 3-МХПД-1,2-бис-эфиры.

5.2.3 3-МХПД, $w > 99,0$ %.

5.2.4 Глицидил стеарат, $w > 95,0$.

5.3 Растворители

5.3.1 Толуол.

5.3.2 трет-Бутилметиловый эфир (МТБЭ), (2-метокси-2 метилпропан).

5.3.3 Метанол.

5.3.4 Изогексан (2-метилпентан).

5.3.5 Этилацетат.

5.3.6 Диэтиловый эфир.

5.3.7 Изооктан.

5.4 Прочие реактивы

5.4.1 Раствор гидроксида натрия, $\rho = 20$ г/л в метаноле или раствор метилата натрия, $\rho = 25$ г/л в метаноле.

5.4.2 Подкисленный раствор хлорида натрия ($\rho = 200$ г/л). Добавляют 35 мл серной кислоты (25 %) в 1 л водного раствора хлорида натрия (200 г/л). 600 мкл данного раствора должны нейтрализовать 200 мкл гидроксида натрия или раствора метилата натрия (5.4.1) и сместить значение pH в кислый диапазон. Возможно использование других кислот (например, уксусной кислоты), но их пригодность должна быть проверена посредством экспериментального добавления или проведения межлабораторных испытаний тестируемого материала.

5.4.3 Подкисленный раствор бромида натрия ($\rho = 600$ г/л). Добавляют 35 мл серной кислоты (25 %) в 1 л водного раствора бромида натрия (600 г/л). 600 мкл данного раствора должны нейтрализовать 200 мкл гидроксида натрия или раствора метилата натрия (5.4.1) и сместить значение pH в кислый диапазон. Возможно использование других кислот (например, уксусной кислоты), но их пригодность должна быть проверена посредством экспериментального добавления или проведения межлабораторных испытаний тестируемого материала.

5.4.4 Сульфат натрия безводный, кристаллический.

5.4.5 Фенилборная кислота, насыщенная в диэтиловом эфире с осаждением.

5.4.6 Азот (например, качество 5,0, степень чистоты = 99,999 %).

6 Оборудование

6.1 Пипетки Эппендорфа (например, от 10 до 100 мкл, от 10 до 200 мкл, от 100 до 1000 мкл).

6.2 Поршневые и градуированные пипетки разных размеров.

6.3 Мерные колбы разных размеров.

6.4 Аналитические весы с дискретностью 0,0001 г, точностью взвешивания 0,001 г.

6.5 Виалы с винтовой резьбой (вместимостью около 2 мл) и крышками с прокладками из политетрафторэтилена (PTFE).

6.6 Пипетки Пастера и резиновые груши.

6.7 Микровставки (вместимостью приблизительно 200 мкл) для виал с винтовыми крышками (вместимостью приблизительно 2 мл).

6.8 Оборудование для продувки азотом.

6.9 ГХ/МС-система с инжектором с программированием температуры.

6.10 ГХ-колонка из кварцевого стекла, неподвижная фаза 50 % дифенилполисилоксана/50 % диметилполисилоксана, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм, низкий фон для МС, с предколонкой.

Предколонку периодически следует заменять, она задерживает нелетучие компоненты и тем самым способствует продлению срока службы основной колонки.

7 Образец

7.1 Отбор проб

Отбор проб не является частью данного метода. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в ИСО 5555.

7.2 Подготовка пробы для анализа

Жидкие образцы следует использовать без дополнительной обработки. Твердые или мутные жиры должны быть расплавлены при температуре приблизительно 80 °С в сушильном шкафу или на водяной бане. Для жиров с высокой температурой плавления температуру необходимо постепенно увеличивать с шагом 10 °С до начала процесса плавления.

Твердые образцы, содержащие большее количество воды, которое приводит к разделению фаз после плавления, не следует расплавлять, а использовать как таковые либо выделять жировую составляющую с помощью жидкость-жидкостной экстракцией. Последняя процедура рекомендуется в том случае, если образцы могут содержать соответствующие количества хлорида, что может быть, например, в каком-либо маргарине или в сливочном масле.

8 Процедура

8.1 Внесение внутреннего стандарта и гомогенизация

Взвешивают с точностью до 0,5 мг две пробы образца по 100 мг в две отдельные виалы с винтовыми крышками вместимостью 2 мл. Добавляют в каждую виалу по 100 мкл раствора внутреннего стандарта (5.2.1) и по 100 мкл МТБЭ (пробы А и В). Обе пробы встряхивают до полного растворения образца. В случае если образец имеет высокую температуру плавления, реакционный сосуд следует нагревать.

8.2 Расщепление сложного эфира и преобразование глицидола

8.2.1 Добавляют к каждой пробе 200 мкл раствора гидроксида натрия или метилата натрия (5.4.1), закрывают виалы и встряхивают в течение короткого времени.

8.2.2 Время реакции для расщепления сложного эфира составляет от 3,5 до 5,5 мин. Мутные растворы или растворы с осадками периодически необходимо встряхивать, в результате чего в большинстве случаев раствор становится прозрачным. Расщепление сложного эфира останавливают добавлением:

- 600 мкл подкисленного раствора хлорида натрия (5.4.2) в первую виалу (проба А);
- 600 мкл подкисленного солевого раствора, не содержащего хлорида (5.4.3) во вторую виалу (проба В).

ВНИМАНИЕ — Крайне важно следить за заданным временем реакции, потому что в щелочном растворе и при повышенной температуре можно спровоцировать образование свободных 3-МХПД и d_5-3-МХПД, которые будут реагировать с образованием глицидола и d_5-глицидола.

8.2.3 Добавляют в обе пробы 600 мкл изогексана, закрывают виалы и энергично встряхивают. Обе виалы оставляют при комнатной температуре приблизительно на 5 мин. На данной стадии в пробе А глицидол проходит кислотный катализ и преобразуется в 3-МХПД и частично в 2-МХПД. Полнота данной реакции зависит от кислотности реакционного раствора, а также от соотношения образующихся изомеров МХПД. Если кислотность недостаточно высока из-за использования слабой кислоты или компонентов, дающих сильно щелочную реакцию, время реакции и температура должны быть увеличены. В противном случае реакция будет незавершенной и невоспроизводимой.

8.3 Очистка определяемого соединения

Энергично встряхивают обе виалы, а затем отделяют и удаляют органическую фазу с помощью пипеток Пастера. Повторяют этот шаг еще раз с 600 мкл изогексана для обеих проб.

8.4 Получение производных

8.4.1 Трижды проводят извлечение из водной фазы (8.3), используя по 600 мкл смеси диэтилового эфира/этилацетата (например, 600 мкл/мл диэтилового эфира, 400 мкл/мл этилацетата) с помощью новых пипеток Пастера. Состав и количество экстракционного растворителя и число извлечений могут

варьироваться. Соединяют органические экстракты каждой пробы, не содержащие водных фаз, в новой виале с винтовой крышкой, содержащей небольшое количество безводного сульфата натрия (5.4.4), добавляют от 10 до 100 мкл реактива для получения производных соединений (5.4.5). Количество реактива для получения производных соединений должно соответствовать возможности хроматографической системы. Если осушающий реактив становится вязким, раствор переливают в новую виалу с винтовой крышкой со свежей порцией сульфата натрия (5.4.4). Обе пробы следует обрабатывать незамедлительно в соответствии с 8.4.2.

8.4.2 Для завершения реакции получения производных соединений и удаления избытка реактива следует упарить обе пробы досуха, используя слабый поток азота. Затем повторно растворить растворимые фракции соответственно в 500 мкл изооктана. Для ГХ/МС измерения одну часть каждой повторно растворенной пробы переносят в микровставку объемом 200 мкл.

8.5 Условия проведения анализа методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии

8.5.1 Вводимый объем: от 1 до 2 мкл.

8.5.2 Газ-носитель: гелий 4,6 (чистота = 99,996 %) или выше, постоянный расход от 1 до 1,4 мл/мин.

8.5.3 Программирование температуры испарителя (PTV): например, 85 °С при 300 °С/мин до 165 °С, изотерма 10 мин, при 300 °С/мин до 320 °С, изотерма 8 мин.

8.5.4 Инжектор: например, без деления потока, продувочный поток 50 мл/мин от 0,5 до 1 мин, продувка резиновой прокладки инжектора 3 мл/мин.

8.5.5 Программирование температуры термостата колонки ГХ: следующие условия были признаны подходящими, но их следует адаптировать под конкретное используемое оборудование и колонку: 85 °С, изотерма 0,5 мин, при 6 °С/мин до 150 °С, при 12 °С/мин до 180 °С, при 25 °С до 280 °С, изотерма 7 мин.

8.5.6 Масс-спектрометрический детектор: ионизация электронным ударом (EI), сканирование по селективно выбранным ионам (SIM), обнаружение сигналов ионов, 149/150/201/203 для внутреннего стандарта, 146/147/196/198 для определяемого вещества. Как правило, соответствующие сигналы ионов 150 и 147 или 201 и 196 используются для количественной оценки, тогда как другие сигналы ионов используются для качественной оценки.

Примечание — Использование хроматографической технологии обратной промывки не требуется.

8.5.7 Для количественной оценки рекомендуется использовать подходящее программное обеспечение с автоматическим анализом.

9 Представление результатов

9.1 Суммарное количество 3-МХПД, который был выделен из связанного 3МХПД, а также образованный из глицидиловых эфиров, определяется путем умножения отношения площадей пиков определяемых веществ и меченного изотопом внутреннего стандарта на соответствующую массовую долю внутреннего стандарта, меченного изотопом, внесенного в пробу А, согласно формуле (1):

$$w_{3\text{-MCPD(A)}} = \frac{SF_A \cdot w_{d_5\text{-3-MCPD(A)}}}{SF_{iA}}, \quad (1)$$

где $w_{3\text{-MCPD(A)}}$ — массовая доля 3-МХПД в пробе А, мг/кг;

$w_{d_5\text{-3-MCPD(A)}}$ — массовая доля d_5-3-МХПД в пробе А, мг/кг;

SF_A — площадь пика 3-МХПД в пробе А;

SF_{iA} — площадь пика d_5-3-МХПД в пробе А.

9.2 Суммарное количество связанного 3-МХПД определяется путем умножения отношения площадей пиков определяемого вещества и меченного изотопом внутреннего стандарта на соответствующую массовую долю внутреннего стандарта, меченного изотопом, внесенного в пробу, в пробу В, согласно формуле (2):

$$w_{3\text{- MCPD(B)}} = \frac{SF_B \cdot w_{d_5\text{-3-MCPD(B)}}}{SF_{iB}}, \quad (2)$$

где $w_{3\text{-MCPD(B)}}$ — массовая доля 3-МХПД в пробе, мг/кг;

$w_{d_5\text{-3-MCPD(B)}}$ — массовая доля d_5-3-МХПД в пробе В, мг/кг;

SF_B — площадь пика 3-МХПД в пробе В;

SF_{iB} — площадь пика d_5-3-МХПД в пробе.

Результаты записывают с точностью до десятых.

9.3 Коэффициент преобразования, который количественно оценивает 3–МХПД, образуемый из глицидола в описанных условиях реакции, может быть определен путем калибровки определяемого вещества в присутствии хлорида (проба А). Таким образом, образец незагрязненного масла или жира обрабатывают согласно разделу 7 (проба А) после добавления различных количеств глицидола (добавляя, например, глицидилстеарат) таким образом, чтобы обеспечить постоянные уровни концентрации. Обратная величина полученной калибровочной кривой $y = mx + n$ равна коэффициенту преобразования t согласно формуле (3):

$$t = \frac{1}{m}, \tag{3}$$

где y — массовая доля $w_{3\text{-MCPD}}$;

x — массовая доля $w_{glycidol}$;

m — угол наклона линии;

n — точка пересечения с осью Y.

9.4 Содержание глицидола. $w_{glycidol}$ — это разность результатов, полученных по формулам (1) и (2), умноженная на коэффициент преобразования t [по формуле (3)], согласно формуле (4):

$$w_{glycidol} = t \cdot \left[w_{3\text{-MCPD(A)}} - w_{3\text{-MCPD(B)}} \right], \tag{4}$$

где $w_{glycidol}$ — массовая доля глицидола в образце, мг/кг.

10 Точность

10.1 Межлабораторное испытание

Подробная информация о межлабораторном испытании точности метода приведена в приложении А. Значения, полученные в результате данного межлабораторного теста, не могут применяться к диапазонам концентраций и определяемых веществ, отличным от приведенных.

10.2 Повторяемость

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами испытаний, полученными одним и тем же методом с идентичным тестируемым материалом в той же лаборатории одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования за короткий промежуток времени, не должна более чем в 5 % случаев превышать значения r, приведенные в таблице А.1

10.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя отдельными результатами испытаний, полученными одним и тем же методом с идентичным тестируемым материалом в разных лабораториях различными операторами, использующими различное оборудование, не должна более чем в 5 % случаев превышать значения R, приведенные в таблице А.1.

11 Протокол испытаний

Минимальные требования к протоколу испытания:

a) данные, необходимые для полной идентификации образца;

b) используемый метод отбора проб, если известен;

c) используемый метод испытания со ссылкой на настоящий стандарт. Необходимо указать используемую процедуру — А или В. Без этого указания метод не будет считаться выполненным;

d) полученный(е) результат(ы);

e) если повторяемость была проверена — полученный конечный искомый результат;

f) любые технические данные — не указанные в настоящем стандарте или считающиеся необязательными, а также сведения о любых инцидентах, которые могли повлиять на результат(ы) испытания.

ВАЖНО — Настоящим документом прямо указывается, что для определения истинного количества 3-МХПД следует использовать только процедуру В, тогда как процедуру А следует использовать для определения комбинированного количества 3-МХПД и глицидола. Метод считается невыполненным, если результаты 3-МХПД фиксируются без указания процедуры, на которой они основаны, — А или В.

Приложение А
(справочное)

Результаты межлабораторного испытания

Точность метода является результатом международного межлабораторного исследования, организованного Объединенным комитетом DIN и DGF по анализу жиров, масел, жировых продуктов, сопутствующих товаров и сырья. Исследование было проведено в 2010 году на следующих шести образцах.

Исследование следующих шести образцов:

- A — рапсовое масло первого отжима;
- B — масло из зародышей кукурузы, рафинированное;
- C — фритюрный жир (гидрогенизированный жир);
- D — масло грецкого ореха/масло из виноградных косточек первого отжима;
- E — соевое масло/подсолнечное масло;
- F — образец А с добавлением 3 мг/кг свободного 3-МХПД.

Оценка результатов проводилась в соответствии с ИСО 5725-2. Результаты для образцов A—F приведены в таблицах А.1 и А.2.

Таблица А.1 — Свод статистических результатов для пробы А

Размерность в мг/кг

Сумма 3-МХПД и глицидола	A	B	C	D	E	F
Количество лабораторий-участников	13	13	13	13	13	13
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	12	12	13	13	13	9
Общее количество значений у всех лабораторий по каждому образцу	24	24	26	26	26	18
Среднее значение m	0,08	1,21	5,35	10,33	1,07	2,66
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,02	0,06	0,23	0,23	0,09	0,10
Коэффициент вариации повторяемости $C_{V,r}$, %	25,6	4,6	4,4	2,3	8,1	3,9
Предельное значение повторяемости r (2,8s)	0,06	0,15	0,66	0,65	0,24	0,29
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,10	0,27	0,97	1,51	0,21	0,45
Коэффициент вариации воспроизводимости $C_{V,R}$, %	131,7	22,6	18,2	14,6	20,0	16,9
Предельное значение воспроизводимости R (2,8s_R)	0,29	0,77	2,72	4,23	0,60	1,26

Таблица А.2 — Свод статистических результатов для пробы

Размерность в мг/кг

3-МХПД	A	B	C	D	E	F
Количество лабораторий-участников	13	13	13	13	13	13
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	12	13	13	13	12	12
Общее количество значений у всех лабораторий по каждому образцу	24	26	26	26	24	24
Среднее значение m	0,09	0,46	2,31	8,12	0,62	2,37
Стандартное отклонение повторяемости s_r	0,04	0,07	0,11	0,22	0,04	0,17
Коэффициент вариации повторяемости $C_{V,r}$, %	44,5	14,7	4,7	2,7	5,7	7,3
Предельное значение повторяемости r (2,8s_r)	0,11	0,19	0,30	0,62	0,10	0,48
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	0,12	0,17	0,54	1,41	0,18	0,57
Коэффициент вариации воспроизводимости $C_{V,R}$, %	130,9	37,7	23,6	17,4	28,5	24,1
Предельное значение воспроизводимости R (2,8s_R)	0,34	0,48	1,52	3,95	0,50	1,60

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочного международного стандарта национальному стандарту

Таблица ДА.1*

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ISO 3696:1987	MOD	ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия»*
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта: - MOD — модифицированный стандарт.		

* Качество воды для лабораторного анализа со степенью чистоты 3 по стандарту ISO соответствует качеству дистиллированной воды по ГОСТ 6709—72 «Вода дистиллированная. Технические условия».

Библиография

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

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

[3] ISO 5725-2, 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 [Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения]

[4] Kuhlmann J. Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2011, 113 pp. 335–344

[5] Ermacora A., & Hrnčiřik K. A novel method for simultaneous monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and glycidyl esters in oils and fats. J. Am. Oil Chem. Soc. 2013, 90 pp. 1–8

[6] Deutsche Gesellschaft fur Fettwissenschaft (DGF). DGF Standard Method C-VI 18 (10) Fatty-acid bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxipropane-1-ol (glycidol). Determination in oils and fats by GC-MS (Differential measurement). Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen, 2011b

[7] Official Method Cd AOCS 29c-13, Approved 2013, Fatty-acid-bound 3-chloropropane-1,2,diol (3-MCPD) and 2,3-epoxi-propane-1-ol (glycidol), Determination in Oils and Fats by GC-MS (Differential Measurement) [Официальный метод Cd AOCS 29c-13, одобренный в 2013. Связанный жирными кислотами 3-хлорпропан-1,2-диол (3-МХПД) и 2,3-эпокси-пропан-1-ол (глицидол), Определение в маслах и жирах по ГХ/МС (Дифференциальное измерение)]

УДК 544.412.3:006.354 ОКС 67.200.10

Ключевые слова: животные жиры, растительные масла, монохлорпропандиол, связанные жирные кислоты, глицидол, газовая хроматография, масс-спектрометрия

БЗ 12—2019/121

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 23.12.2019. Подписано в печать 22.01.2020. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,60.
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.

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

gost.e-ecolog.ru