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
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «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
Россия	RU	Росстандарт
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

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 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».

Официальные экземпляры международных стандартов, на основе которых подготовлен настоящий межгосударственный стандарт и на которые даны ссылки, имеются в базе Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «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

© Стандартинформ, 2016

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 использованы ссылки 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 применяется 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.

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.

[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.

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;

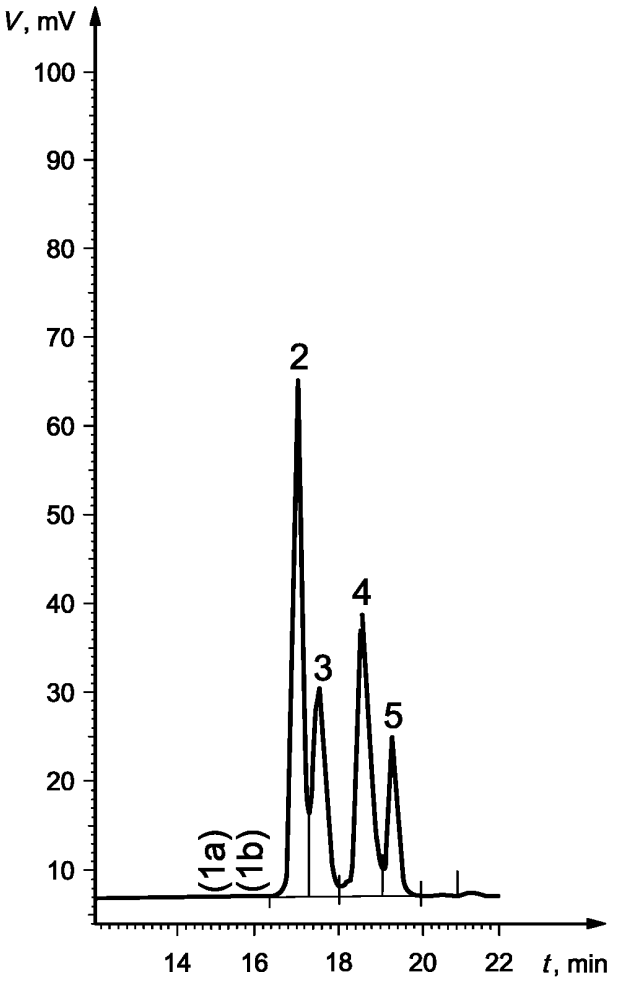
в) использованный метод испытания со ссылкой на настоящий стандарт;

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);

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

Приложение А
(информационное)

Хроматограммы

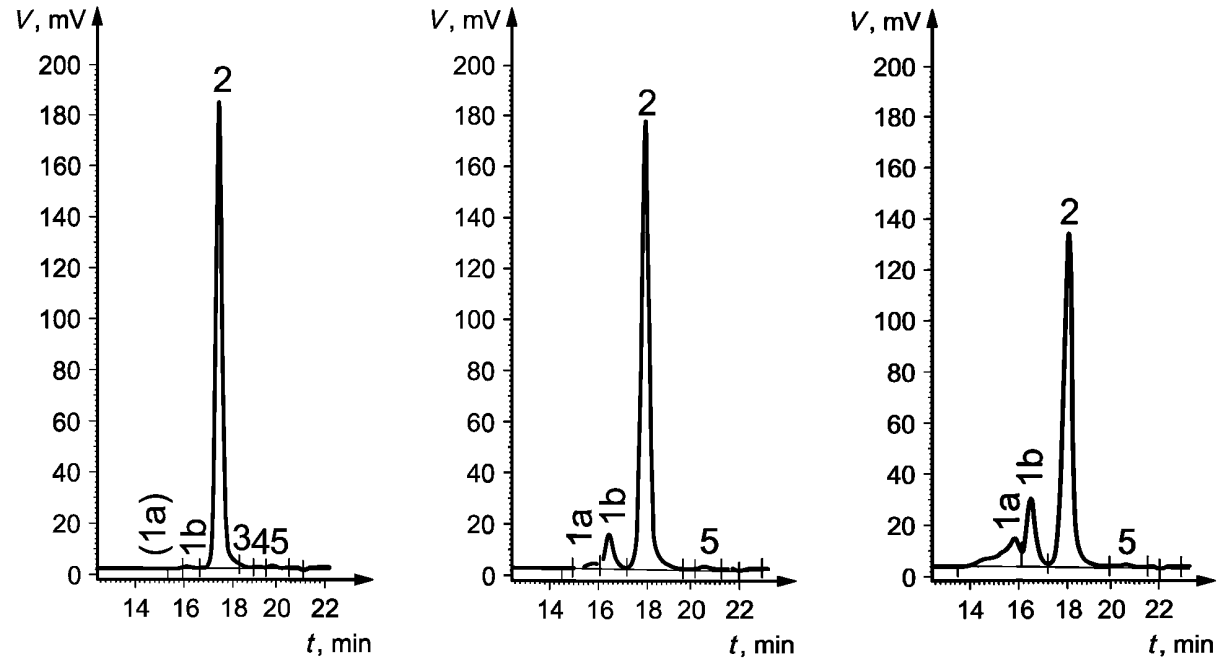


Обозначение

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 — ВЭЭХ 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 — ВЭЭХ 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 межгосударственного стандарта ссылочному международному стандарту (международным документам)

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 661	*
* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов	

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: gost.e-ecolog.ru iupac.org/publications/pac/1991/pdf/6308x1163.pdf)

УДК 665.2/.3:543 МКС 67.200.10 IDT

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

Редактор *Т.С. Ложникова*
Технический редактор *В.Ю. Фотиева*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 26.07.2016. Подписано в печать 16.08.2016. Формат 60 ×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,48. Тираж 47 экз. Зак. 1955.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru