МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO/TS 17764–1— 2015

КОРМА, КОМБИКОРМА

Определение содержания жирных кислот

Часть 1
Приготовление метиловых эфиров

(ISO/TS 17764–1:2002, 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—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по международной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП») на основе официального перевода на русский язык англоязычной версии международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 4 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 августа 2015 г. № 79–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	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова–Стандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 19 октября 2015 г. № 1572–ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO/TS 17764-1—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TS 17764–1:2002 «Корма для животных. Определение содержания жирных кислот. Часть 1. Приготовление метиловых эфиров» (« Animal feeding stuffs – Determination of the content of fatty acids — Part 1: Preparation of methyl esters», IDT).

Международный документ разработан подкомитетом ISO/TC 34/SC 10 «Корма для животных» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа в соответствии с требованиями межгосударственной системы стандартизации и общепринятой в Российской Федерации отраслевой терминологией.

В настоящем стандарте заменены единицы измерения объема: «литр» на «дециметр кубический», «миллилитр» на «сантиметр кубический», для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001 (пункт 4.14.1).

Официальные экземпляры международного документа, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам 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

Введение

ISO/TS 17764 «Корма для животных. Определение содержания жирных кислот» состоит из двух частей:

- Часть 1: Приготовление метиловых эфиров;
- Часть 2: Метод газовой хроматографии.

Настоящий стандарт является первой частью ISO/TS 17764 и устанавливает методы приготовления метиловых эфиров жирных кислот.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА, КОМБИКОРМА
Определение содержания жирных кислот
Часть 1
Приготовление метиловых эфиров

Feeds, compound feeds.
Determination of the content of fatty acids. Part 1. Preparation of methyl esters

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает два метода получения метиловых эфиров жирных кислот животных и растительных жиров, масел и смесей жирных кислот, используемых в качестве комбикормового сырья, и жирных кислот, полученных экстракцией жира из кормов и комбикормов для животных, включая жиры и смеси жирных кислот, содержащих масляную кислоту.

Общий метод с применением трифторида бора (BF_3) определяет подготовку метиловых эфиров жирных кислот с шестью или более атомами углерода из жиров, масел и свободных жирных кислот.

Метод KOH/HCl определяет подготовку метиловых эфиров жирных кислот, содержащих четыре или более атома углерода, для количественного определения жирных кислот с длиной цепи короче, чем десять атомов углерода в смесях свободных жирных кислот.

Полученные метиловые эфиры далее используют для газожидкостной хроматографии (ГЖХ).

Примечания

1 При подготовке метиловых эфиров не удаляются неомыляемые вещества и, если они присутствуют в значительных количествах, то могут влиять на хроматографический анализ.

2 Сложные метиловые эфиры жирных кислот, полученные в соответствии с методами, указанными в настоящем стандарте, используют для определения содержания жирных кислот в жире методом газовой хроматографии с применением капиллярной колонки и пламенно-ионизационного детектора, установленным во второй части ISO/TS 17764.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на межгосударственные стандарты, которые являются обязательными. Для датированных ссылок применяют только указанное издание. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения).

ISO 661:1989 Animal and vegetable fats and oils - Preparation of test sample (Жиры и масла животные и растительные. Приготовление пробы для испытания).

ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use - Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний).

ISO 6492:1999 Animal feeding stuffs - Determination of fat content (Корма для животных. Определение содержания жира).

3 Экстракция жира

3.1 Общее описание

Экстракцию жира для определения содержания омыляемых жирных кислот в кормах для животных или в комбикормах проводят в соответствии с категориями корма А и Б, которые указаны в ISO 6492, с дополнениями, указанными в 3.2. и 3.3.

К категории Б относят:

- корма животного происхождения, включая молочные продукты;
- корма растительного происхождения, из которых жиры не могут быть извлечены без предварительного гидролиза, в частности: глютен, дрожжи, соя, и белок картофеля, и термообработанные корма;
- комбикорма, в которых не менее 20 % содержания жира обеспечено вводом вышеперечисленных продуктов.

К категории А относят все продукты, не упомянутые в категории Б.

[ГОСТ 32905—2014 (ISO 6492:1999), раздел 1].

Издание официальное

3.2 Продукты категории А

Экстракцию жира из продуктов категории А выполняют в соответствии с ISO 6492 (пункт 9.5.1).

Далее растворитель выпаривают в роторном испарителе при температуре не более 40 °С. Остаток высушивают в течение 2 ч в вакуумном сушильном шкафу при температуре (40 ± 2) °С.

3.3 Продукты категории Б

Экстракцию жира из продуктов категории Б проводят в два этапа. На первом этапе готовят навеску в соответствии с ISO 6492 (подраздел 9.3) как указано для пробы категории А, затем проводят экстракцию по ISO 6492 (пункт 9.5.1).

Экстракт жира собирают в сухую колбу. Из остатка выпаривают растворитель путем высушивания патрона на воздухе.

Гидролиз остатка выполняют в соответствии с ISO 6492 (подраздел 9.4).

После гидролиза остаток высушивают в экстракционном патроне в течение 60 мин в вакуумном сушильном шкафу при температуре (40 ± 2) °С.

Высушенный остаток экстрагируют в соответствии с ISO 6492 (пункт 9.5.1).

Полученный второй экстракт жиров добавляют к первому экстракту.

Из объединенного экстракта растворитель выпаривают в роторном испарителе при температуре не более 40 °С и высушивают остаток в течение 2 ч в вакуумном сушильном шкафу при температуре (40 ± 2) °С.

4 Подготовка испытуемой пробы жира или экстракта жира

Если проба жира или экстракт жира расплавлены не полностью, их нагревают до температуры, не превышающей температуру плавления более чем на 10 °С (см. ISO 661).

5 Получение метиловых эфиров жирных кислот с шестью или более атомами углерода (BF_3 метод)

5.1 Сущность

Глицериды омыляют метанольным раствором гидроокиси натрия. Мыла преобразуются в метиловые эфиры путем взаимодействия с комплексом трехфтористый бор/метанол.

5.2 Реактивы

Все реактивы должны быть признанной аналитической степени чистоты.

5.2.1 Вода 3 степени чистоты по ISO 3696.

5.2.2 Гептадекановая кислота (внутренний стандарт), с содержанием основного вещества не менее 99 %.

5.2.3 Гидроокись натрия, метанольный раствор, $c(NaOH) \approx 0{,}5$ моль/дм^3

Растворяют 2 г гидроокиси натрия в 100 см^3 метанола, содержащего не более 0,5 % (массовая доля) воды. При длительном хранении раствора может образоваться небольшое количество белого осадка карбоната натрия, который не оказывает никакого влияния на приготовление метиловых эфиров.

Вместо гидроокиси натрия допускается использовать метанольный раствор гидроокиси калия с той же концентрацией.

5.2.4 Бор трехфтористый (BF_3), метанольный раствор с массовой долей BF_3 от 10 % до 15 %.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Трехфтористый бор является ядовитым. Рекомендуется использовать готовый раствор, который имеется в продаже.

Некоторые реактивы могут затруднять газохроматографический анализ метиловых эфиров. В частности, пик BF_3 может выходить в области выхода пиков метиловых эфиров жирных кислот с 20 и 22 атомами углерода. Рекомендуется проверить реактивы путем подготовки метилового эфира олеиновой кислоты с последующим газохроматографическим анализом, при этом используемые реактивы не должны приводить к наложению пиков.

5.2.5 н-гексан или н-гептан.

5.2.6 Хлорид натрия, насыщенный водный раствор.

5.2.7 Сульфат натрия безводный.

5.3 Оборудование

Используют обычное лабораторное оборудование, в частности:

5.3.1 Круглодонная колба вместимостью 50 см^3 со шлифованным горлом и снабженная шлифованной стеклянной пробкой.

5.3.2 Стеклянные шарики или трубочки обезжиренные для равномерного кипения раствора.

5.3.3 Обратный холодильник с эффективной длиной от 20 до 30 см со шлифованным соединением, подходящим к колбе.

5.3.4 Градуированные пипетки вместимостью не менее 10 $см^3$, оснащенные резиновой грушей, и автоматические пипетки.

5.3.5 Виалы с завинчивающимися крышками.

5.4 Проведение испытания

5.4.1 Общие рекомендации

Из-за токсических свойств трехфтористого бора, метилирование следует проводить под вытяжкой. Всю стеклянную посуду сразу после использования вымыть водой.

Если жирные кислоты содержат больше двух двойных связей, рекомендуется удалить воздух из колбы барботированием раствора азотом, который содержит менее 5 мг/кг кислорода, в течение нескольких минут, а затем поддерживать ток азота в верхней части холодильника в течение последующего омыления.

При подготовке сложных метиловых эфиров жирных кислот для газожидкостной хроматографии растворитель из раствора метиловых эфиров не удаляют.

5.4.2 Подготовка навески

Взвешивают с от 100,0 до 250,0 мг подготовленной анализируемой пробы (см. раздел 4) в круглодонную колбу (см. 5.3.1). В качестве внутреннего стандарта в колбу добавляют гептадекановую кислоту (см. 5.2.2) массой около 20 % от массы навески и взвешенную *с записью результата до первого десятичного знака*. Взвешивают во вторую круглодонную колбу примерно такое же количество подготовленной анализируемой пробы.

Испытания проводят параллельно в двух колбах как описано далее.

Пробы масла или жира омыляют и метилируют в соответствии с 5.4.3 и 5.4.4.

Пробы, состоящие исключительно из свободных жирных кислот или мыла, метилируют в соответствии с 5.4.5.

Допускается использовать навеску менее 100 мг, если материала недостаточно. Предписываемые количества реактивов и растворителей должны быть пропорционально уменьшены.

5.4.3 Омыление

В каждую колбу с навеской добавляют 4 $см^3$ метанольного раствора гидроокиси натрия (см. 5.2.3) и кипелки (см. 5.3.2). На колбу устанавливают холодильник (см. 5.3.4).

Кипятят с обратным холодильником до исчезновения капелек жира, а затем еще в течение 30 мин.

Если присутствуют какие-либо неомыляемые вещества, которые могут мешать анализу, раствор после омыления разбавляют водой, а затем экстрагируют диэтиловым эфиром, гексаном или петролейным эфиром. Экстракт отбрасывают. После подкисления оставшегося омыленного раствора, жирные кислоты разделяют и метилируют в соответствии с 5.4.5.

5.4.4 Получение метиловых эфиров из проб жира или масла

К кипящему раствору через верхнюю часть холодильника с помощью градуированной пипетки (см. 5.3.4) добавляют 5 $см^3$ метанольного раствора три-фторида бора (см. 5.2.4). Кипячение продолжают в течение 3 мин.

Процедуру продолжают по 5.4.6.

5.4.5 Подготовка метиловых эфиров, если проба содержит исключительно свободные жирные кислоты или соапстока

В колбу с помощью градуированной пипетки (см. 5.3.4) добавляют 5 $см^3$ метанольного раствора трифторида бора (см. 5.2.4). На колбу устанавливают холодильник (см. 5.3.3) и кипятят в течение 3 мин.

5.4.6 Экстракция

Колбу снимают с источника нагревания. Через верхнюю часть холодильника добавляют от 1 до 3 $см^3$ н-гексана (см. 5.2.5).

Примечание — Объем добавленного растворителя не имеет решающего значения.

Охлаждают до комнатной температуры. Удаляют холодильник и добавляют около 15 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия (см. 5.2.6).

Колбу закрывают пробкой и энергично встряхивают. Добавляют еще насыщенного раствора хлорида натрия (см. 5.2.6), чтобы довести уровень жидкости до горла колбы. Дают двум фазам разделиться. Переносят большую часть верхнего слоя с помощью пипетки в виалу (см. 5.3.5). Экстрагируют солевой раствор еще три раза порциями от 1 до 3 $см^3$ н-гексана (см.5.2.5) путем встряхивания и переноса верхнего слоя в виалу.

Далее в виалу добавляют небольшое количество безводного сульфата натрия (см. 5.2.7), чтобы удалить остатки воды из раствора.

Раствор готов для газохроматографического анализа. Массовая доля метиловых эфиров в экстракте составит около 3 %, при массе навески от 100 до 250 мг.

Если для газохроматографического анализа используется холодный впрыск в колонку, то экстракт разбавляют. Для этого в мерную колбу вместимостью 25 $см^3$ вносят пипеткой 0,25 $см^3$ экстракта и н-гексаном (см. 5.2.5) доводят объем раствора до метки.

6 Способ получения метиловых эфиров жирных кислот с четырьмя и более атомами углерода (метод KOH/HCl)

6.1 Сущность

Глицериды преобразуются в метиловые эфиры путем переэтерификации с метилатом калия в абсолютном метаноле. Свободные жирные кислоты этерифицируют раствором соляной кислоты в метаноле.

6.2 Реактивы

Все реактивы должны быть признанной аналитической степени чистоты.

6.2.1 Вода, соответствующая степени чистоты 3 ISO 3696.

6.2.2 Гептадекановая кислота (внутренний стандарт), с содержанием основного вещества не менее 99 %.

6.2.3 н-гексан или н-гептан.

6.2.4 н-пентан.

6.2.5 Калия метилат, метанольный раствор, $c(CH_3OK) \approx 2$ моль/$дм^3$.

Растворяют 7,8 г металлического калия в 100 $см^3$ абсолютного метанола. Раствор готовят ежедневно.

Допускается использовать вместо метанольного раствора метилата калия метанольный раствор метилата натрия с той же концентрацией.

6.2.6 Сульфат натрия безводный.

6.2.7 Метанол безводный.

В колбу, содержащую 250 $см^3$ метанола, добавляют 5 г сульфата натрия (см. 6.2.6). Колбу закрывают и энергично встряхивают. Раствор фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу (см. 6.3.1) и колбу плотно закрывают.

6.2.8 Соляная кислота, метанольный раствор, $w(HCl) \approx 20$ %.

Взвешивают с записью результата до первого десятичного знака 80 г метанола (см. 6.2.7) в коническую колбу (см. 6.3.1).

При охлаждении через перемешиваемый метанол пропускают струю газообразного хлористого водорода до тех пор, пока масса раствора не увеличится на 20 г. Раствор охлаждают.

Срок хранения раствора в плотно закрытой емкости в темноте не более 3 мес.

6.3 Оборудование и средства измерения

Используют обычное лабораторное оборудование, в частности:

6.3.1 Конические колбы вместимостью 250 $см^3$ со шлифованным горлом, снабженные шлифованными стеклянными пробками.

6.3.2 Реакционные виалы, вместимостью около 10 $см^3$, оснащенные завинчивающимися крышками с вкладышем.

6.3.3 Градуированные цилиндры, вместимостью 10 $см^3$.

6.3.4 Термостат, способный поддерживать температуру (85 ± 3) °С и снабженный магнитной мешалкой.

6.4 Проведение испытаний

В две виалы (см. 6.3.2) взвешивают с записью до первого десятичного знака от 50 до 75 мг подготовленной анализируемой пробы (см. раздел 4). В одну из виал в качестве внутреннего стандарта добавляют гептадекановую кислоту (см. 6.2.2) массой около 20 % от массы навески и взвешенную с записью до первого десятичного знака.

Испытание проводят параллельно в двух виалах.

В каждую виалу добавляют 4 $см^3$ н-гексана (см. 6.2.3). Если для газохроматографического анализа используется холодный впрыск в колонку, то для жирных кислот с менее чем 10 атомами углерода вместо н-гексана добавляют 4 $см^3$ н-пентана.

Добавляют около 75 мг безводного сульфата натрия (6.2.6) и встряхивают до растворения пробы.

В реакционную виалу добавляют 0,20 см^3 метилата калия (см. 6.2.5), закрывают ее и энергично встряхивают в течение 20—50 с. Раствор немедленно мутнеет вследствие образования глицерина, который быстро оседает. Добавляют 2 см^3 метанольного раствора соляной кислоты (см. 6.2.8) и перемешивают магнитной мешалкой. Реакционную виалу закрывают, помещают в нагревательный блок (см. 6.3.4), заранее нагретый до температуры 85 °С, и выдерживают в течение 20 мин при постоянном перемешивании. В течение этого периода смесь встряхивают несколько раз.

Виалу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, энергично встряхивая под струей холодной водопроводной воды.

Верхний слой с метиловыми эфирами сливают. Растворитель из раствора метиловых эфиров не удаляют.

Полученный раствор метиловых эфиров используют для газохроматографического определения содержания жирных кислот по ГОСТ ISO/TS 17764-2.

Если масса навески была от 50 мг до 75 мг, то массовая доля метиловых эфиров в растворе составит около 2 %.

Если для газохроматографического анализа используется холодный впрыск в колонку, то экстракт разбавляют. Для этого в мерную колбу вместимостью 25 см^3 вносят пипеткой 0,25 см^3 экстракта и н-гексаном (см. 6.2.4) доводят объем раствора до метки.

7 Хранение

Полученные растворы метиловых эфиров используют для газохроматографического анализа. При необходимости раствор метиловых эфиров может быть сохранен в течение нескольких недель в атмосфере инертного газа при температуре от 4 ° С до 8 ° С.

В случае более длительного срока хранения для предотвращения окисления метиловых эфиров рекомендуется добавить к раствору антиоксидант в концентрации, которая не окажет влияния на газохроматографический анализ. Например, БГТ (бутилгидрокситолуол) 0,05 г/дм^3.

8 Протокол испытания

Протокол испытаний должен содержать:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- используемый метод взятия пробы, если он известен;
- способ этерификации (т.е. метод BF_3 или метод KOH/HCl) с последующей ссылкой на эту часть ГОСТ ISO 17764-1;
- все рабочие подробности, не указанные в этой части ГОСТ ISO 17764-1 или рассматриваемые как дополнительные, вместе с подробной информацией о любых инцидентах, которые могли повлиять на результат(ы) испытаний.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 661:1989	—	*
ISO 3696:1987	—	**
ISO 6492:1999	MOD	ГОСТ 32905—2014 (ISO 6492:1999) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения содержания сырого жира

*Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать ГОСТ 32190-2013, который соответствует указанному международному стандарту.

**Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать в части требований к воде 3-го класса ГОСТ 6709-72, который распространяется на тот же объект стандартизации и является сопоставимым со ссылочным международным стандартом в части требований к воде 3-го класса.

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

— MOD — модифицированный стандарт.

УДК 663/664.777:006.354 МКС 65.120 IDT

Ключевые слова: корма, жирные кислоты, метиловые эфиры, метод с трифторидом бора, метод KOH/HCl, экстракция, омыление, метилирование, этерификация, переэтерификация

Редактор *Н.Н. Мигунова*

Корректор *О.В. Лазарева*

Компьютерная верстка *Д.М. Кульчицкого*

Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,40. Тираж 34 экз. Зак. 214.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru