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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 31757— 2012

МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ, ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Определение содержания твердого жира методом импульсного ядерно-магнитного резонанса

(ISO 8292-1:2008, NEQ)
(ISO 8292-2:2008, NEQ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

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 межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт жиров Российской академии сельскохозяйственных наук» (ГНУ «ВНИИЖ» Россельхозакадемии) при участии ООО «БРУКЕР»

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 24 мая 2012 г. № 51)

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
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1622-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31757—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения международных стандартов:

- ISO 8292-1:2008 Animal and vegetable fats and oil — Determination of solid fat content by pulsed NMR — Part 1: Direct method (Животные и растительные жиры и масла. Определение содержания твердого жира методом импульсного ядерного магнитного резонанса. Часть 1. Прямой метод);
- ISO 8292-2:2008 Animal and vegetable fats and oil — Determination of solid fat content by pulsed NMR — Part 2: Indirect method (Животные и растительные жиры и масла. Определение содержания твердого жира методом импульсного ядерного магнитного резонанса. Часть 2. Непрямой метод).

Степень соответствия — неэквивалентная (NEQ).

Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 53158—2008

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

© Стандартинформ, 2014

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 2
4 Обозначения 2
5 Сущность методов 2
6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы 3
7 Методы отбора проб 5
8 Подготовка к измерению 5
9 Выполнение измерения 5
10 Выражение результатов 13
11 Метрологические характеристики методов 13
12 Требования безопасности при проведении измерения 13
13 Требования к квалификации оператора 13
Приложение А (справочное) Теория прямого и косвенного методов 14

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ, ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Определение содержания твердого жира методом импульсного ядерно-магнитного резонанса

Animal and vegetable fats and oils and their derivates.
Determination of solid fat content by pulsed nuclear magnetic resonance method

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на животные жиры, растительные масла и продукты их переработки (далее — жиры) и устанавливает следующие методы определения содержания твердого жира с использованием импульсного ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) низкого разрешения:

- прямой метод;
- косвенный метод.

Методы позволяют определять содержание твердого жира в диапазоне измерений от 1,5 % до 95,0 %.

Косвенный метод может также применяться для определения содержания твердого жира в жиросодержащих продуктах с низкой влажностью (менее 1 %), например в шоколаде.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.018—93 Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 37—91 Масло коровье. Технические условия

ГОСТ 976—81 Маргарин, жиры для кулинарии, кондитерской и хлебопекарной промышленности. Правила приемки и методы испытаний

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 5471—83 Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 8285—91 Жиры животные топленые. Правила приемки и методы испытания

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **содержание твердого жира:** Отношение числа положительно заряженных ядер водорода (далее — протонов) в твердой фазе образца к общему числу протонов в твердой и жидкой фазах образца при определенной температуре, выраженное в процентах.

Примечание — Метод ЯМР не определяет массовый процент твердой фазы, так как в общем случае твердая и жидкая фазы образца отличаются по протонной плотности (числу протонов на единицу массы) и, следовательно, содержание твердого жира не эквивалентно индексу твердого жира, определяемому методом дилатометрии. Обычно протонная плотность твердой фазы несколько выше, чем жидкой (на 0,5 % — 1,0 %).

3.2 **содержание жидкого жира:** Содержание жира, находящегося в жидком состоянии при определенной температуре, равное 100 минус содержание твердого жира, выраженное в процентах.

3.3 **темперирование:** Температурная обработка жира, проводящаяся после кристаллизации перед измерением для достижения равновесного состояния при температуре измерения, заключающаяся в выдерживании жира при фиксированных температурах в течение определенного времени для перевода его в нужное полиморфное состояние и/или для достижения желаемого равновесия фаз и/или для завершения кристаллизации.

3.4 **температуры измерений:** Температуры, при которых происходит определение содержания твердого жира.

Примечание — Если нет других указаний, определение следует выполнять, используя следующие температуры или некоторые из них: 0 °С, 5 °С, 10 °С, 15 °С, 20 °С, 25 °С, 27,5 °С, 30 °С, 32,5 °С, 35 °С, 37,5 °С, 40 °С, 45°С, 50 °С, 55 °С и 60 °С.

3.5 **серийные измерения:** Одна измерительная ампула заполняется одним конкретным образцом. После темперирования согласно протоколу и охлаждения при 0 °С каждую измерительную ампулу выдерживают при первой температуре измерения в течение требуемого времени и измеряют содержание твердого жира; далее выдерживают при второй температуре измерения и так далее. Таким образом, для каждого образца требуется только одна ампула, независимо от того, при каком количестве температур производят измерения.

3.6 **параллельные измерения:** Для каждого образца и каждой температуры измерения заполняется одна ампула. После темперирования согласно протоколу и охлаждения при 0 °С все измерительные ампулы в быстрой последовательности нагревают до температуры измерения, выдерживают требуемое время и измеряют содержание твердого жира.

Примечание — Хотя для этого типа измерений требуется больше ампул, чем для серийных измерений, общее время измерений значительно короче, потому что каждое измерение не зависит от других. Например: при выдерживании в течение 90 мин при 0 °С и затем выдерживании в течение 60 мин при температурах измерения 10 °С, 20 °С, 30 °С и 40 °С серийные измерения занимают 5,5 ч, тогда как параллельные измерения займут 2,5 ч.

3.7 **протокол измерения:** Полное описание условий измерения содержания твердого жира для конкретного вида жира, с указанием процедуры темперирования, метода (прямой или косвенный) и типа измерений.

4 Обозначения

В настоящем стандарте применены следующие обозначения:

f — фактор коррекции (экстраполяции) для экстраполяции полученного ЯМР-сигнала к сигналу в нулевой момент времени;

N_T — содержание твердого жира, измеренное при температуре T;

S_1, S_2 — уровни сигнала магнитной индукции, измеренные при 11 и 70 мкс, соответственно.

5 Сущность методов

5.1 Темперирование образца при заданной температуре до стабильного состояния; последующее нагревание и выдерживание при температуре измерения. После достижения электромагнитного равновесия в постоянном магнитном поле ЯМР-анализатора с использованием 90° радиоимпульса:

- для прямого метода — измерение сигналов протонов как твердой, так и жидкой фаз (около 11 и 70 мкс соответственно); точное время устанавливается производителем прибора). Из-за «мертвого» времени прибора первое измерение можно выполнить только после того, как сигнал твердой фазы заметно уменьшится. Поэтому следует использовать фактор коррекции *f*, чтобы скорректировать результат измерения и рассчитать содержание твердого жира N_T, %, при данной температуре, по формуле

$$N_T = \frac{f \cdot (S_1 - S_2)}{f \cdot (S_1 - S_2) + S_2} \cdot 100, \quad (1)$$

где f — фактор коррекции;

S_1, S_2 — уровни сигнала магнитной индукции, измеренные при 11 и 70 мкс, соответственно.

- для косвенного метода — измерение сигнала протонов только жидкой фазы и дальнейший расчет содержания твердого жира путем сравнения с образцом, содержащим только жидкий жир.

Дополнительные сведения о теории методов приведены в приложении А.

5.2 Условия проведения определения

При подготовке и проведении определения должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды ..... от 18 °С до 28 °С;
- относительная влажность воздуха ..... от 20 % до 80 %.
- напряжение питающей сети ..... (220 ± 20) В;
- частота переменного тока ..... (50 ± 1) Гц.

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

6.1 ЯМР-анализатор низкого разрешения*, обладающий следующими техническими характеристиками:

- диапазон частот ЯМР-анализатора 20—40 МГц;
- однородность поля магнита должна обеспечивать полупериод спада намагниченности образца жидкого жира не менее 1000 мкс;
- сумма «мертвого» времени и ширины импульса не более 10 мкс (интервал между последовательными импульсами плюс время, в течение которого детектор прибора не способен зарегистрировать спад сигнала);
- динамический диапазон не менее 90 дБ;
- измерительная ячейка для ампул диаметром 10 мм;
- температура стабилизации магнита (40,0 ± 0,1) °С, отклонение среднего установившегося значения не более ± 0,01°С;
- ЯМР-анализатор должен иметь персональный компьютер или вычислительное устройство для проведения измерений в автоматическом режиме, расчета значений и представления результатов измерений на экран компьютера или на другой дисплей, с возможностью вывода отчетов результатов анализа на принтер;
- ЯМР-анализатор должен обладать устройством (датчиком), позволяющим начинать измерение сразу же после установки ампулы с образцом в измерительную ячейку;
- ЯМР-анализатор должен позволять изменять время задержки между измерениями и число накоплений сигнала ЯМР;
- измерительная ячейка ЯМР-анализатора должна быть оборудована устройством (вставками), позволяющим центрировать положение образца относительно измерительной катушки.

6.2 Образцы с аттестованным содержанием твердого жира для градуировки прибора. Значения должны быть постоянными для всех температур измерения. Образцы для градуировки поставляются вместе с прибором и должны иметь сертификат, подтверждающий подлинность значений.

---

* При разработке стандарта использовался ЯМР-релаксометр Minispec фирмы Bruker.

6.3 Ампулы измерительные стеклянные для ЯМР-измерений, с пробками, диаметром (10,00 ± 0,25) мм, толщина стекла (0,90 ± 0,25) мм, минимальная длина ампулы 150 мм или другие согласно требованиям производителя прибора (входят в комплект прибора).

6.4 Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,02 г.

6.5 Бани водяные или термостаты, поддерживающие температуру с точностью ± 0,1 °С. Бани или термостаты должны поддерживать температуры 0 °С — 60 °С для кондиционирования и выполнения измерений согласно требованиям выбранного протокола измерений. Для фиксации ампул необходимо наличие в водяных банях или термостатах алюминиевых блоков или металлических держателей.

6.6 Блоки алюминиевые с отверстиями: диаметр отверстий должен составлять (10,35 ± 0,10) мм. Глубина отверстий должна быть равной 70 мм. Толщина металла между отверстиями и расстояние между краем отверстия и ближайшей частью боковой поверхности должна быть 10 мм. Расстояние между двумя соседними отверстиями должно быть не менее 17 мм (от центра до центра). Для каждой используемой водяной бани требуется один блок. Блоки должны погружаться в воду на глубину 60 мм.

6.7 Держатели металлические открытые с отверстиями: диаметр отверстий должен быть от 11 до 15 мм. Расстояние между двумя соседними отверстиями должно быть не менее 20 мм (от центра до центра). Для каждой используемой водяной бани требуется один металлический держатель.

Каждый держатель следует размещать в водяную баню так, чтобы ампулы были погружены на глубину не менее 60 мм.

Примечание — Металлические держатели предпочтительней алюминиевых блоков, особенно в случае измерения большого количества образцов с высоким содержанием твердого жира, или если используют протокол измерений «Быстрый» или «Очень быстрый». При использовании алюминиевых блоков может потребоваться довольно большое количество времени для нагревания пробирок до нужной температуры. Кажущимся преимуществом блоков является то, что пробирки могут оставаться сухими и нет необходимости их вытирать перед тем, как поместить в ЯМР-анализатор. Однако, как оказывается на практике, из-за разбрызгивания или конденсации пробирки всегда становятся влажными, таким образом, всегда рекомендуется осушить пробирки с помощью мягкой бумаги.

6.8 Термоблоки электрические с отверстиями, поддерживающие температуру с точностью ± 0,1°С. Эти блоки можно использовать отдельно от водяных бань, за исключением случаев, когда требуется температура 0 °С. Диаметр отверстий должен составлять (10,35 ± 0,10) мм.

Примечание — В принципе, термоблоки по сравнению с водяными банями обладают тем преимуществом, что пробирки никогда не контактируют с водой. На практике, как и в случае водяных бань с алюминиевыми блоками, требуется большое количество времени для достижения нужной температуры. Теплообмен можно улучшить, если продувать ячейки сухим газом. Также в блоках труднее осуществлять точный контроль температуры, хотя современная электроника может обеспечить подобный точный контроль.

Блоки не рекомендуется использовать при температуре 0 °С, поскольку потребуется мощное охлаждение. Как правило, их следует использовать при температурах от 35 °С и выше, когда нет необходимости в охлаждении (исходя из того, что комнатная температура ниже 22 °С) и не требуется очень точного контроля температуры из-за более низких значений содержания твердого жира.

6.9 Термостат, поддерживающий температуру от 80^{+2}_{-2} °С до 100^{+2}_{-2} °С.

Примечание — Несмотря на то, что при температуре 80 °С допускается использовать водяную баню или электрические термоблоки, предпочтительно использовать термостат. Температура 80 °С используется для расплавления образца, а также для разрушения «кристаллической памяти» образца. При заполнении пробирок жир неизбежно остается на стенках выше уровня погружения пробирки в баню или термоблок. В случае использования термостата весь жир будет равномерно прогреваться, и не будет оставаться нерасплавленных кристалликов с неизвестной «кристаллической памятью», которые могут повлиять на кристаллизацию жира при 0 °С. Таким образом, использование термостата позволяет получить более точные и воспроизводимые результаты.

6.10 Печь микроволновая.

6.11 Стакан В-1 — 50 ТС ГОСТ 25336 .

6.12 Цилиндр 1(3)–5(10)–2 ГОСТ 1770.

6.13 Таймер.

6.14 Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

6.15 Азот жидкий.

6.16 Триолеин, массовой долей основного вещества не менее 99 %, с перекисным числом менее 5 ммоль активного кислорода/кг.

Хранят при температуре ниже 0 °С. Ампулы с триолеином, используемые для сравнения, можно хранить в холодильнике при температуре от 0 °С до 8 °С не более двух недель.

7 Методы отбора проб

Отбор проб животных жиров — по ГОСТ 8285.

Отбор проб масла и пасты масляной из коровьего молока — по ГОСТ 37 и нормативному документу, действующему на территории государства, принявшего стандарт.

Отбор проб растительных масел — по ГОСТ 5471.

Отбор проб жировых продуктов — по ГОСТ 976 и нормативному документу, действующему на территории государства, принявшего стандарт.

8 Подготовка к измерению

8.1 Градуировка ЯМР-анализатора

Проводят градуировку ЯМР-анализатора в соответствии с руководством по эксплуатации к прибору, используя образцы для градуировки (см. 6.2). Проверка правильности градуировки осуществляется по этим же градуировочным образцам в соответствии с руководством по эксплуатации прибора.

При проверке правильности градуировки используют любой образец (см. 6.2). Результат измерения не должен отклоняться более чем на 0,3 % (абс.) от аттестованного значения, указанного на ампуле. В противном случае изменяют значение *f* и повторяют контроль со всеми тремя образцами для градуировки. Если результаты измерения одного из образцов отклоняются более чем на 0,3 % (абс.) от аттестованных значений, необходимо заново провести градуировку прибора в соответствии с руководством по эксплуатации.

8.2 Выделение жировой фазы из эмульсионных жировых продуктов

Первый вариант.

Пробу продукта массой 40—50 г расплавляют в химическом стакане на водяной бане, в термостате или микроволновой печи, выдерживают до полного расслоения. Жировой слой фильтруют через складчатый фильтр в сушильном шкафу. Если отфильтрованный жир прозрачен, то приступают к измерению. При наличии в жире мути его фильтруют повторно.

Из выделенного жира берут пробу для выполнения измерений.

Второй вариант (для труднорасслаивающихся продуктов).

Пробу продукта массой 40—50 г расплавляют, как указано выше. Для ускорения разрушения эмульсии допускается добавлять к пробе 5—7 г поваренной соли. Затем стакан с пробой помещают в холодильник до полного застывания жира. Застывший жир вынимают, подсушивают между двумя слоями фильтровальной бумаги, расплавляют и фильтруют, как указано выше. Из выделенного жира берут пробы для выполнения измерений.

9 Выполнение измерения

9.1 Прямой метод

9.1.1 Выбор протокола измерения

Выбирают подходящий протокол из таблицы 1 в соответствии с руководством по эксплуатации используемого ЯМР-анализатора. Для некоторых жиров более пригодны протоколы, приведенные в таблице 2.

Таблица 1

Протокол измерения		Область применения	Инструментальные требования	«Первое» время, 0 °С	Темперирование		«Второе» время 0 °С	Условия измерения	
Обозначение	Наименование				Время	Температура		Тип	Время
1D	Нестабилизируемый	Жиры и смеси (содержащие преимущественно растительные жиры, гидрогенизированные и/или переэтерифицированные) кристаллизирующиеся в β'-полиморфной форме и используемые для производства маргаринов, спредов, шортенингов и других продуктов пищевого назначения	1 f = 1,4 – 1,45 2 RT[1] = 2 с 3 NP[2] = 3	Не требуется	Нет		(60 ± 2) мин	Параллельные	(30 ± 1) мин
2D	β-стабилизируемый	Масло какао, эквиваленты масла какао, подобные жиры, содержащие большое количество 2-олео-динасыщенных триацилглицеролов и кристаллизующихся в β-полиморфной форме	1 f = 1,6 – 1,65 2 RT[1] = 6 с 3 NP[2] = 1	(90 ± 2) мин	(40,0 ± 0,5) ч	26 °С	(90 ± 2) мин	Параллельные	(60 ± 2) мин

[1] Время повтора. Требуется 6 с для жиров в β-полиморфной форме.

[2] Число использованных импульсов. Значения, полученные для каждого импульса, усредняются прибором. Предпочтительно использовать три импульса, однако некоторые старые приборы могут давать только либо один, либо четыре (1^2 или 2^2) импульса, в этом случае используется четыре импульса. Для протокола 2D, где используется RT, равный 6 с, три импульса требуют времени, достаточного для того, чтобы образец в измерительной ячейке частично расплавился и содержание твердого жира уменьшилось в процессе измерения.

Таблица 2

Протокол измерения		Область применения	Инструментальные требования	«Первое» время 0 °С	Темперирование		«Второе» время 0 °С	Условия измерения	
Обозначение	Наименование				Время	Температура		Тип	Время
3D	Для медленно кристаллизующихся жиров	Молочный жир и его фракции и смеси, содержащие преимущественно молочный жир; животные жиры и их смеси, содержащие преимущественно животные жиры; другие медленно кристаллизующиеся жиры	1 f = 1,4 – 1,45 2 RT[1] = 2 с 3 NP[2] = 3	Не требуется	Нет		(16,0 ± 0,5) ч	Параллельные	(30 ± 2) мин
4D	Для корелляции с индексом твердого жира[3]	Жиры и смеси (содержащие преимущественно растительные жиры, гидрогенизированные и/или переэтерифицированные) кристаллизирующиеся в β'-полиморфной форме и используемые для производства маргаринов, спредов, шортенингов и других продуктов пищевого назначения	1 f = 1,4 – 1,45 2 RT[1] = 2 с 3 NP[2] = 3	(15 ± 1) мин[4]	(30±1) мин	26,7 °С	(15 ± 1) мин	Серии параллельных только при 10,0 °С; 21,1 °С; 26,7 °С; 33,3 °С и 37,8 °С	(45 ± 2) мин
5	Быстрый	Как для 1D, но в случае, когда быстрый метод требуется для целей контроля	1 f = 1,4 – 1,45 2 RT[1] = 2 с 3 NP[2] = 3	Не требуется	Нет		(30 ± 1) мин	Параллельные	(15 ± 1) мин
6	Ультрабыстрый	Как для 1D, но в случае, когда ультрабыстрый метод требуется для целей контроля	1 f = 1,4 – 1,45 2 RT[1] = 2 с 3 NP[2] = 3	Не требуется	Нет		Вместо 0 °С 1 мин в жидком азоте	Параллельные	(30 ± 1) мин

[1] Время повтора. Требуется 6 с для жиров в β-полиморфной форме.

[2] Число использованных импульсов. Значения, полученные для каждого импульса, усредняются прибором. Предпочтительно использовать три импульса, однако некоторые старые приборы могут давать только либо один, либо четыре (1^2 или 2^2) импульса, в этом случае используется четыре импульса.

[3] Протокол измерения следует использовать, если необходимо получить наилучшую корреляцию между содержанием твердого жира, полученным методом ЯМР и индексом твердого жира, полученным дилатометрическим методом.

[4] Перед первой кристаллизацией при 0 °С выдерживают жир при 26,7 °С в течение (15 ± 1) мин.

9.1.2 Определение фактора коррекции *f* (в случае необходимости)

Измерение содержания твердого жира с помощью градуировочных образцов позволяет получить воспроизводимые значения *f* для жиров в β'-полиморфном состоянии в интервале температур, предусмотренном настоящим стандартом. Для β-полиморфных жиров, таких как масло какао и других жиров и их смесей, полиморфное состояние для которых неизвестно, для исключения систематических ошибок следует определить точное значение *f*.

9.1.2.1 Для определения точного значения *f* используют косвенный метод по 9.2. Определяют содержание твердого жира в анализируемых образцах и в жидком образце сравнения (триолеине). Регистрируют содержание твердого жира *N* по 9.2, но также записывают значения сигналов S_1 и S_2.

9.1.2.2 Для каждого образца рассчитывают *f* по формуле

$$f = \frac{N \cdot S_2}{(100 - N) \cdot (S_1 - S_2)}, \qquad (2)$$

где N — содержание твердого жира, рассчитанное по формуле (3);

S_1, S_2 — уровни сигнала магнитной индукции, измеренные при 11 и 70 мкс, соответственно.

9.1.2.3 На практике используют усредненное значение *f*. Для масла какао и других жиров, кристаллизующихся в β-полиморфной форме, значение *f* находится в интервале 1,6—1,7.

Примечание — Ввиду невозможности определить точное значение *f* для смесей β-полиморфных жиров (масло какао) с β'-полиморфными жирами (молочный жир, фракции пальмового масла), рекомендуется использовать для определения содержания твердого жира в таких смесях косвенный метод по 9.2.

9.1.3 Заполнение измерительных ампул

Образец жира объемом около 30 $см^3$ помещают в стакан, полностью расплавляют в термостате и тщательно перемешивают.

9.1.3.1 Для параллельных измерений, как обычно делается в прямом методе, образцом заполняют по одной ампуле для каждой температуры измерения.

Для серии измерений образцом заполняется одна ампула.

9.1.3.2 Измерительные ампулы заполняют расплавленным жиром на высоту 30—50 мм, или объемом 2 $см^3$, или в соответствии с инструкцией к прибору. Закрывают ампулы пробками и помещают их в блоки вертикально.

9.1.3.3 После заполнения жиром ампулы помещают в термостат и выдерживают при температуре, превышающей температуру плавления жира на 20 °С (обычно около 80 °С), не менее 15 мин.

9.1.3.4 Переносят все ампулы в водяную баню или термоблок с температурой 60 °С и выдерживают не менее 15 мин.

9.1.4 Кристаллизация и темперирование

9.1.4.1 Если требует выбранный протокол измерения, помещают ампулы в термостат с температурой 0 °С. Выдерживают ампулы при 0 °С в течение времени, обозначенного как «первое» в протоколе измерения.

9.1.4.2 Если требует выбранный протокол измерения, помещают ампулы в термостат для темперирования при заданной температуре и выдерживают их в течение необходимого времени.

9.1.4.3 Если требует выбранный протокол измерения, с интервалом в (1,0 ± 0,5) мин или в (2,0 ± 0,5) мин (см. 9.1.5.1.а) для выбора интервала) переносят ампулы в термостат, поддерживающий температуру 0 °С (или жидкий азот — для протокола «Ультрабыстрый»). Выдерживают ампулы при 0 °С в течение времени, обозначенного как «второе» в протоколе измерения.

9.1.5 Измерение содержания твердого жира

В большинстве случаев и, как указано в таблице 1, выполняют параллельное измерение.

Примечание — Серийное измерение используют в том случае, когда образца мало или он требует меньшего времени подготовки. Также оно применяется (протокол 4D, таблица 2), когда требуется наилучшая сопоставимость с результатами предварительного дилатометрического метода.

9.1.5.1 Параллельное измерение

а) С интервалом в (1,0 ± 0,5) или (2,0 ± 0,5) мин переносят ампулы с образцами в водяную баню или термоблок с заданными температурами. Число перемещенных ампул при каждом выбранном интервале должно быть равным числу температур, при которых проводят измерения. Выбор временного

интервала зависит от числа ампул/температур, выбранных для измерения, квалификации оператора и приборного оснащения.

Примечание — Опыт показывает, что обычно возможно перенести ампулу из водяной бани в ЯМР-анализатор и выполнить измерение за 15 с. Поэтому шесть ампул/температур измерения могут быть легко обработаны в течение 2 мин;

б) Спустя заданное протоколом время точно в такой же последовательности, как при помещении ампул в водяную баню или термоблок, помещают ампулы в ЯМР-анализатор с тем же интервалом в (1,0 ± 0,5) мин или (2,0 ± 0,5) мин. Перед помещением в измерительную ячейку прибора предварительно обтирают каждую ампулу мягкой бумагой для удаления следов воды. Считывают показание прибора, отражающее значение содержания твердого жира. Если образец полностью прозрачен, значение равно нулю.

9.1.5.2 Серии измерений.

а) С интервалами (1,0 ± 0,5) мин помещают ампулы с образцами в водяную баню или термоблок с наименьшей температурой измерения.

б) Спустя период времени, установленный протоколом, точно в той же последовательности, с какой ампулы помещали в водяную баню, переносят ампулы в ЯМР-анализатор. Перед помещением в измерительную ячейку прибора ампулу предварительно обтирают мягкой бумагой для удаления следов воды. Считывают результат измерения.

в) Переносят ампулу с каждым образцом последовательно с интервалами (1,0 ± 0,5) мин в водяную баню или термоблок, поддерживающие следующую более высокую температуру.

Повторяют процедуру как в 9.1.5.2 б) до тех пор, пока все образцы не будут измерены.

При использовании фактора коррекции *f* содержание твердого жира рассчитывают по формуле (1).

Примечание — Для получения сопоставимых результатов важно выдерживать временные интервалы, установленные протоколом. Для этой цели рекомендуется пользоваться таймером.

9.2 Косвенный метод

9.2.1 Выбор протокола измерения

Выбирают подходящий протокол из таблицы 3 в соответствии с руководством по эксплуатации используемого ЯМР-анализатора. Для некоторых жиров более пригодны протоколы, приведенные в таблице 4.

Таблица 3

Протокол измерения		Область применения	Инструментальные требования	«Первое» время 0 °С	Темперирование		«Второе» время 0 °С	Условия измерения	
Обозначение	Наименование				Время	Температура		Тип	Время
1I	Нестабилизируемый косвенный	Жиры и смеси (содержащие преимущественно растительные жиры, гидрогенизированные и/или переэтерифицированные) кристаллизирующиеся в β'- полиморфной форме и используемые для производства маргаринов, спредов, шортенингов и других продуктах пищевого назначения	1 RT[1] = 2 с 2 NP[2] = 3	Не требуется	Нет		(60 ± 2) мин	Серии	(30 ± 1) мин
2I	β-стабилизируемый косвенный	Масло какао, эквиваленты масла какао, подобные жиры, содержащие большое количество 2-олео-ди-насыщенных триацилглицеролов и кристаллизующихся в β-полиморфной форме	1 RT[1] = 6 с 2 NP[2] = 1	(90 ± 2) мин	(40 ± 0,5) ч	26 °С	(90 ± 2) мин	Серии	(60 ± 2) мин

[1] Время повтора. Требуется 6 с для жиров в β-полиморфной форме.

[2] Число использованных импульсов. Значения, полученные для каждого импульса, усредняются прибором. Предпочтительно использовать три импульса, однако некоторые старые приборы могут давать только либо один, либо четыре (1^2 или 2^2) импульса, в этом случае используется четыре импульса. Для протокола 2I , где используется RT, равный 6 с, три импульса требуют времени, достаточного для того, чтобы образец в измерительной ячейке частично расплавился и содержание твердого жира уменьшилось в процессе измерения.

Таблица 4

Протокол измерения		Область применения	Инструментальные требования	«Первое» время 0 °С	Темперирование		«Второе» время 0 °С	Условия измерения	
Обозначение	Наименование				Время	Температура		Тип	Время
3I	Для медленно кристаллизующихся жиров	Молочный жир и его фракции и смеси, содержащие преимущественно молочный жир; животные жиры и их смеси, содержащие преимущественно животные жиры; другие медленно кристаллизующиеся жиры	1 RT[1] = 2 с 2 NP[2] = 3	Не требуется	Нет		(16 ± 0,5) ч	Серии	(30 ± 2) мин
4I	Для корелляции с индексом твердого жира[3]	Жиры и смеси (содержащие преимущественно растительные жиры, гидрогенизированные и/или переэтерифицированные) кристаллизирующиеся в β'-полиморфной форме и используемые для производства маргаринов, спредов, шортенингов и других продуктах пищевого назначения	1 RT[1] = 2 с 2 NP[2] = 3	(15 ± 1) мин[4]	(30 ± 1) мин	26,7 °С	(15 ± 1) мин	Серии только при 10,0 °С; 21,1 °С; 26,7 °С; 33,3 °С и 37,8 °С	(45 ± 2) мин
7	Для шоколада	Как для 1D, но в случае, когда быстрый метод требуется для целей контроля	1 RT[1] = 6 с 2 NP[2] = 3	(90 ± 2) мин	(64 ± 0,5) ч	20 °С	(90 ± 2) мин	Серии	(30 ± 1) мин

[1] Время повтора. Требуется 6 с для жиров в β-полиморфной форме.

[2] Число использованных импульсов. Значения, полученные для каждого импульса, усредняются прибором. Предпочтительно использовать три импульса, однако некоторые старые приборы могут давать только либо один, либо четыре (1^2 или 2^2) импульса, в этом случае используется четыре импульса. Для протокола 7, где используется RT, равный 6 с, три импульса требуют времени, достаточного для того, чтобы образец в измерительной ячейке частично расплавился и содержание твердого жира уменьшилось в процессе измерения.

[3] Протокол измерения следует использовать, если необходимо получить наилучшую корреляцию между содержанием твердого жира, полученным методом ЯМР и индексом твердого жира, полученным дилатометрическим методом.

[4] Перед первой кристаллизацией при 0 °С выдерживают жир при 26,7 °С в течение (15 ± 1) мин.

9.2.2 Заполнение измерительных ампул

Образец жира объемом (30 ± 5) $см^3$ помещают в стакан, полностью расплавляют в термостате и тщательно перемешивают.

а) Для каждого образца заполняют две измерительных ампулы. Дополнительно заполняют две ампулы триолеином.

б) Заполняют ампулы на высоту около 10 мм или как указано у производителя прибора.

в) Закрывают ампулы пробками и помещают их в блоки вертикально.

Примечание

1 Косвенный метод дает более низкую повторяемость, чем прямой метод, и в связи с этим рекомендуется проводить измерения двух повторностей одного образца.

2 Заполнение ампул на высоту 10 мм для косвенного метода, как рекомендуется производителем прибора, потребует также использования подходящей вставки в измерительную ячейку, чтобы поднять ампулу таким образом, чтобы весь образец находился внутри обмотки, создающей магнитное поле. На практике из-за того, что все ампулы заполняют на одну и ту же высоту, было обнаружено, что результаты мало отличаются, как если бы ампулы заполняли таким же образом как в прямом методе, т. е. на высоту 30—50 мм и использовали ту же самую вставку.

3 Для сокращения времени рекомендуется термостатировать ампулы непосредственно в металлических блоках.

9.2.3 После заполнения жиром ампулы помещают в термостат и нагревают при температуре, превышающей температуру плавления жира по меньшей мере на 20 °С (обычно около 80 °С), не менее 15 мин.

9.2.4 Переносят все ампулы в водяную баню или термостат при 60 °С и выдерживают не менее 15 мин.

9.2.5 Измерение сигнала образцов, содержащих 100 % жидкой фазы

Считывают результат измерения (или, если автоматического пересчета нет, считывают значение сигнала S_2). Если некоторые образцы не являются полностью жидкими, процедура измерения должна осуществляться при температуре, при которой образец полностью расплавится.

9.2.6 Кристаллизация и темперирование

На всех стадиях процедуры временные интервалы должны соответствовать условиям, указанным ниже, или протоколу измерения.

а) Если требует выбранный протокол измерения, ампулы помещают в баню или термостат с температурой 0 °С. Выдерживают ампулы при 0 °С в течение времени, обозначенного как «первое» в протоколе измерения.

б) Если требует выбранный протокол измерения, помещают ампулы в баню или термостат для темперирования при заданной температуре и выдерживают их в течение необходимого времени.

в) Начиная с триолеина, с интервалом в (1,0 ± 0,5) мин переносят ампулы в баню, поддерживающую температуру 0 °С. Выдерживают ампулы при 0 °С в течение времени, обозначенного как «второе» в протоколе измерения.

9.2.7 Измерение содержания твердого жира

В косвенном методе используют только серийные измерения.

а) С интервалами (1,0 ± 0,5) мин точно в той же последовательности, в какой они помещались в баню или термостат с температурой 0 °С, переносят две ампулы с одним и тем же образцом в водяную баню или термостат с наименьшей температурой измерения.

б) Спустя период времени, установленный протоколом, точно в такой же последовательности переносят ампулы в ЯМР-анализатор. Перед помещением в измерительную ячейку ампулу предварительно обтирают мягкой бумагой для удаления следов воды.

в) Помещают ампулу с каждым образцом последовательно с интервалами (1,0 ± 0,5) мин в водяную баню или термостат, поддерживающие следующую более высокую температуру.

в) Повторяют процедуру по (б) до тех пор, пока все образцы не будут измерены.

г) При отсутствии автоматической обработки рассчитывают содержание твердого жира по формуле

$$N_T = \left(1 - \frac{S^R_{60} \cdot S_T}{S_{60} \cdot S^R_T}\right) \cdot 100, \qquad (3)$$

где S^R_{60} — сигнал S_2 триолеина при 60 °С;

S^R_T — сигнал S_2 триолеина после темперирования;

S_{60} — сигнал S_2 образца при 60 °С;

S_T — сигнал S_2 образца после темперирования.

Примечания

1 Опыт показывает, что обычно возможно перенести ампулу из бани или термостата в ЯМР-анализатор и произвести измерение за 15 с, следовательно, две ампулы могут быть проанализированы за 1 мин.

2 Если ЯМР-анализатор оборудован компьютером, то ампулы с триолеином и образцом анализируются в той последовательности, которая указана в руководстве по эксплуатации программного обеспечения анализатора.

3 Для получения сопоставимых результатов важно выдерживать временные интервалы, установленные протоколом. Для этой цели рекомендуется пользоваться таймером.

10 Выражение результатов

10.1 За окончательный результат измерения принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости и удовлетворяющих условию приемлемости (см. 11.1).

10.2 Содержание твердого жира N_T, %, записывают до первого десятичного знака.

11 Метрологические характеристики методов

11.1 Предел повторяемости

Расхождение между результатами двух независимых единичных определений, выполненных одним методом, на идентичном анализируемом материале, в одной лаборатории, одним аналитиком, на одном оборудовании, за короткий промежуток времени, при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должно превышать значений пределов повторяемости r, указанных в таблице 5.

11.2 Предел воспроизводимости

Расхождение между результатами двух единичных определений, выполненных одним методом, на идентичном анализируемом материале, в разных лабораториях, разными аналитиками, на различном оборудовании, при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должно превышать значений пределов воспроизводимости R, указанных в таблице 5.

11.3 Показатели точности

Границы абсолютной погрешности методов, пределы повторяемости и пределы воспроизводимости при $P = 0,95$ приведены в таблице 5.

Таблица 5

Метод	Границы абсолютной погрешности ± Δ, %	Предел повторяемости r, %	Предел воспроизводимости R, %
Прямой	2,0	1,5	3,0
Косвенный	4,0	3,0	6,0

12 Требования безопасности при проведении измерения

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.018 и электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

Лица с кардиостимуляторами не должны приближаться на расстояние ближе 30 см к ЯМР-оборудованию. Вблизи ЯМР-оборудования не должны находиться тяжелые металлические предметы.

Жидкий азот — низкокипящая жидкость, которая может вызвать обмораживание кожи и поражение слизистой оболочки глаз. Работы, связанные с жидким азотом, следует проводить в защитных очках и перчатках.

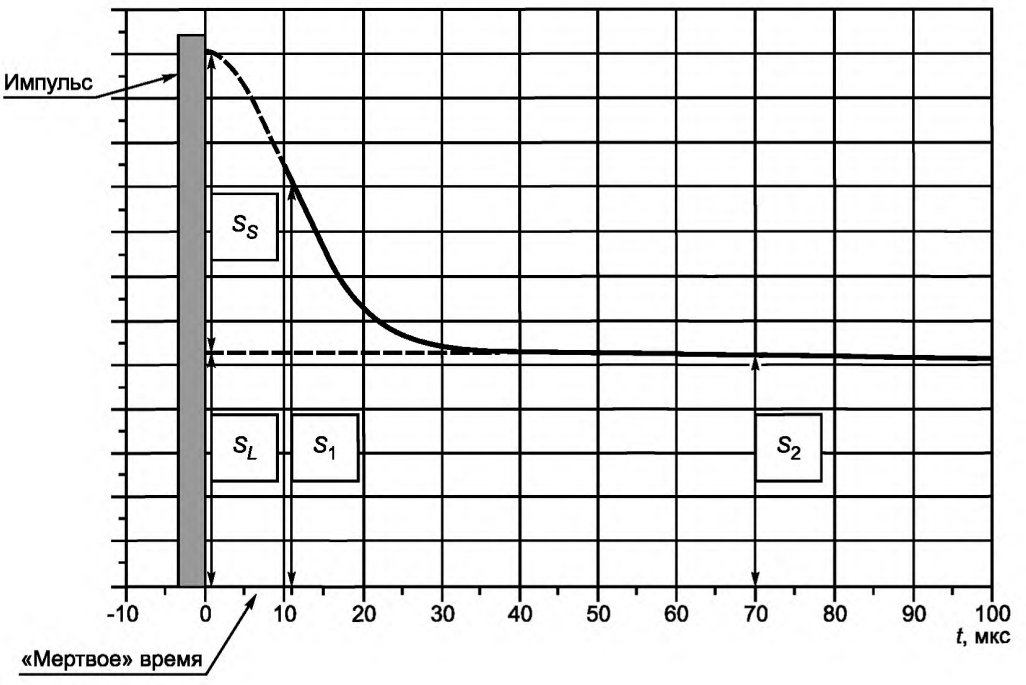
13 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений допускаются специалисты, изучившие методики и прошедшие инструктаж по технике безопасности.

Приложение А
(справочное)

Теория прямого и косвенного методов

А.1 Для измерения содержания твердого жира используется короткочастотный радиоимпульс, направленный относительно магнитного поля под углом 90°, т. е. перпендикулярно. Магнитное поле создается постоянным магнитом. Благодаря спин-спиновой релаксации спад магнитной индукции происходит, как показано на рисунке А.1.



S_L, S_S — амплитуда сигнала спада магнитной индукции жидкой и твердой фаз соответственно; $S_T = S_L + S_S$ — амплитуда жидкой + + твердой фазы; S_1, S_2 — уровни сигнала магнитной индукции, измеренные при 11 и 70 мкс, соответственно

Рисунок А.1 — Спад магнитной индукции для образца жира после однократного 90° радиоимпульса

Спад сигнала протонов твердой фазы происходит быстро (десятки микросекунд), в то время как спад сигнала протонов жидкой фазы — значительно медленнее (от десятков до сотен миллисекунд). На практике в существующих приборах спад сигнала жидкой фазы происходит за несколько миллисекунд. С помощью современных электронных устройств можно измерить как суммарный сигнал протонов твердой и жидкой фаз, так и сигнал протонов только жидкой фазы и таким образом рассчитать содержание твердого жира. Однако, как показано на рисунке А.1, у прибора после импульса существует «мертвое» время, когда никакие измерения нельзя осуществить. Таким образом, невозможно измерить суммарный сигнал S_T, а можно только S'_T через 11 мкс. ЯМР-релаксометр Minispec фирмы Bruker регистрирует два сигнала S_1 и S_2 при 11 и 70 мкс, соответствующих S'_T и S_L, как показано на рисунке А.1. Уровень сигнала, соответствующий твердотельной части спада при 11 мкс $S'_S = S'_T - S_L$.

А.2 Прямой метод

Для экстраполяции S'_T при 11 мкс к S_T в нулевой момент времени исходят из того, что $S_S = f \cdot S'_S$, где f — фактор коррекции, определенный эмпирически.

Далее, так как $S_T = S_S + S_L$, получаем $S_S = f(S'_T - S_L)$.

Исходя из $N_T = \dfrac{f(S'_T - S_L)}{f(S'_T - S_L) + S_L} 100$ или $N_T = \dfrac{f(S_1 - S_2)}{f(S_1 - S_2) + S_2} 100$, получаем формулу (1).

Прямой метод позволяет получить только приблизительное значение содержания твердого жира по следующим причинам:

- линейная экстраполяция, в основном, не выполняется для нелинейного спада кривой;
- значение f зависит от подвижности молекул, т. е. температуры, способа упаковки протонов, т. е. полиморфизма жира и размера кристаллов; для типичного ЯМР-анализатора, для α-полиморфных жиров, f обычно составляет 1,10—1,30, для β'-полиморфных — 1,40—1,50 и для β-полиморфных — 1,60—2,00;
- значение f изменяется в зависимости от температуры по мере того, как увеличивается содержание жидкой фазы.

Тем не менее, прямой метод часто предпочитают использовать на практике из-за хорошей воспроизводимости и относительной простоты калибровки. Так как многие жиры главным образом кристаллизуются в β'-полиморфной форме, значение f 1,40—1,45 обычно используется для всех температур и при калибровке с помощью стандартов «полимер-в-масле».

А.3 Косвенный метод

Если известно, что жир не находится в β'-полиморфной форме, например, масло какао (β) или салатрим[1] (α) или, если неизвестно, в какой полиморфной форме находится жир, прямой метод может привести к существенным ошибкам. Чтобы избежать этого и чтобы исключить неточность, связанную с использованием фактора f, измеряют сигнал только жидкой фазы S_2 косвенным методом. Содержание твердого жира N_T при температуре измерения T рассчитывают по формуле

$$N_T = \left[1 - \frac{\textit{число протонов в жидкой фазе при } T}{\textit{число протонов в жидкой фазе полностью расплавленного жира}}\,100\right]. \qquad (A.1)$$

Измерение сигнала полностью расплавленного жира требует поправки на температурное расширение анализируемого жира при температуре T. В качестве образца сравнения используют триолеин, остающийся жидким при любой температуре измерения. Исходя из формулы (1), содержание твердого жира N_T, %, рассчитывают по формуле

$$N_T = \left[1 - \frac{S_{60}^R \cdot S_T}{S_{60} \cdot S_T^R}\right] \cdot 100, \qquad (A.2)$$

где S_{60}^R — сигнал S_2 магнитной индукции триолеина при 60 °С;

S_T — сигнал S_2 магнитной индукции триолеина при температуре T;

S_{60} — сигнал S_2 магнитной индукции образца при 60 °С;

S_T^R — сигнал S_2 магнитной индукции образца при температуре T.

Для целей данного метода делается допущение, что плотность протонов триолеина и образца одинакова. Вследствие этого допущения возникает небольшая погрешность, которой на практике можно пренебречь. Косвенный метод дает по сути точные результаты измерения содержания твердого жира. Даже в том случае, если выбирается прямой метод, необходимо использовать косвенный метод для определения фактора f для β-полиморфных жиров.

---

[1] Салатрим — коротко- и длинноцепочечные молекулы триацилглицеридов.

УДК 665.335.4.001.4:006.354 МКС 67.200.10 Н69 NEQ

Ключевые слова: масла растительные, жиры животные, измерение, твердый жир, образец жира, метод ядерно-магнитного резонанса низкого разрешения, ЯМР-анализатор, импульс, темперирование, фактор коррекции (экстраполяции), диапазон частот, выражение результатов

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 26.09.2014. Подписано в печать 27.10.2014. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,63. Тираж 50 экз. Зак. 4398.

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

gost.e-ecolog.ru