
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
2019

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН 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
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

(Поправка).

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 международному стандарту 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-performance 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».

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

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ИЗДАНИЕ (декабрь 2019 г.) с Поправкой (ИУС № 6—2019)

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2009 — Все права сохраняются

© Стандартиформ, оформление, 2016, 2019



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

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 использована нормативная ссылка 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 применен 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 элюируемыми 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).

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 Тoluол для HPLC.

5.3 Оливковое масло первого холодного отжима в качестве стандартного образца: добавить от 100 до 300 мг масла к 10 см³ 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 см³, с политетрафторэтиленовым линейным фильтром для подвижной фазы.

6.2 HPLC-насос, безимпульсный, с объемным расходом от 0,5 до 1,5 см³/мин.

6.3 Инжекционный клапан с петлей 20 мкл и соответствующим шприцем объемом от 50 до 100 мм³ 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 нм¹⁾.

Примечание — Хроматограммы в приложении А показывают требуемое разрешение с двумя колонками.

Рекомендуют использование защитной колонки. Эффективность колонки, определяемая как число теоретических тарелок для мономерных TAGs, должна быть не менее 6000.

Температуру колонки поддерживают от 30 °C до 35 °C 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 °C до 35 °C).

6.6 Система хроматографических данных (CDS) обеспечивает отображение и точный количественный анализ площадей пиков.

6.7 Шприцы одноразового использования объемом 1 см³.

6.8 Нейлоновые фильтры, размер пор 0,45 мкм²⁾.

6.9 HPLC-шприц объемом от 50 до 100 мм³.

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 инъекционного клапана. Соединить колонку с инъекционным клапаном и промыть его, используя 30 см³ THF.

Присоединить колонку к детекторной ячейке для пробы. Наполнить контрольную ячейку THF.

Установить скорость элюента подвижной фазы от 0,5 до 1,0 см³/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 см³ THF и гомогенизировать. При необходимости отфильтровать через нейлоновый фильтр (6.8). Ввести HPLC-шприцем (6.9) от 20 до 40 мм³ 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 A.1 и A.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 A.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.

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.

Массовую долю PTAGs, в граммах на 100 г продукта w_{PTAG} , вычисляют по формуле

$$w_{\text{PTAG}} = \frac{\sum A_{\text{PTAG}}}{\sum A_{\text{tot}}} \cdot 100,$$

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.

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.

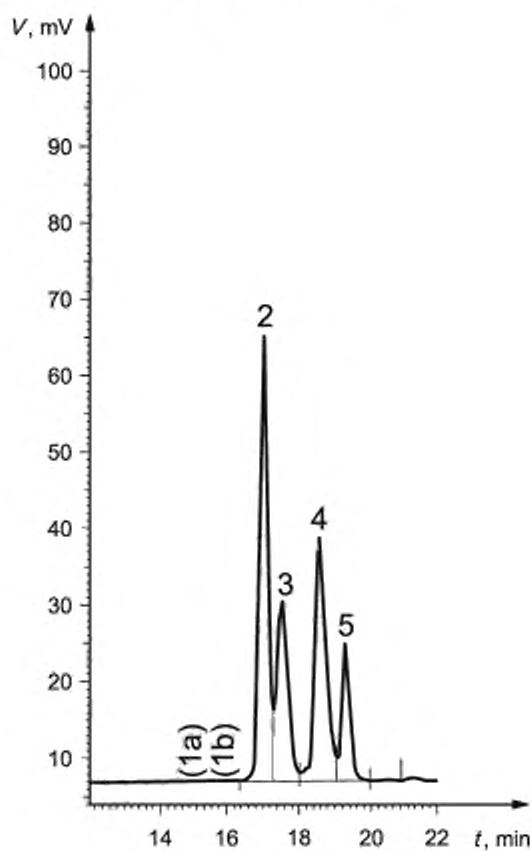
12 Отчет об испытании

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);
- д) полученный(ые) результат(ы) или, если воспроизводимость была проверена, конечный результат.

Приложение А
(информационное)

Хроматограммы

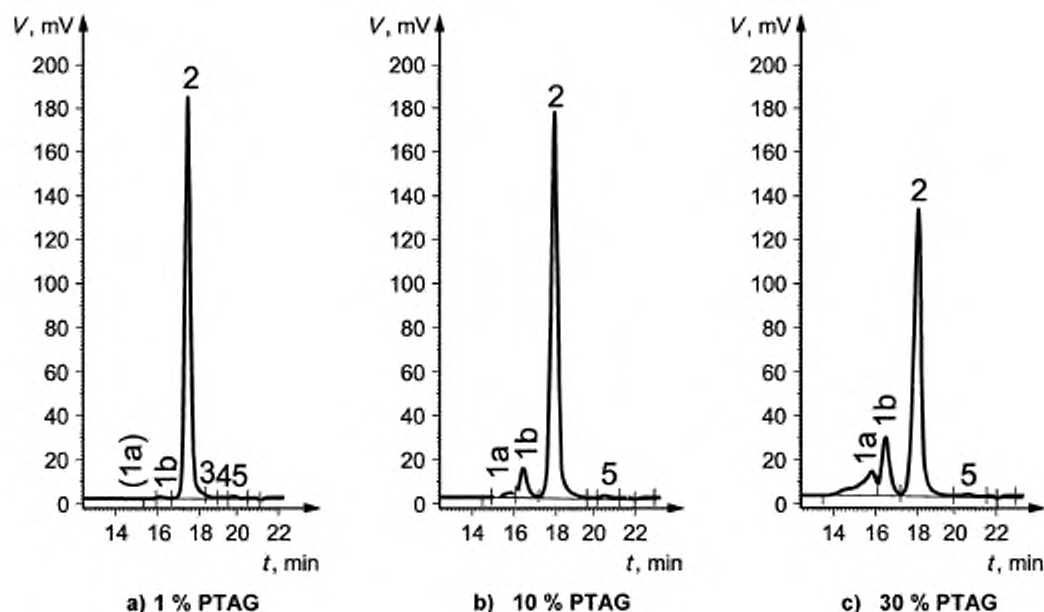


Обозначение

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 — ВЭЖХ 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 — ВЭЖХ 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	А	В	С	Д	Е
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_{TAG} , %	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 ссылочного международного стандарта
межгосударственному стандарту

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 661	IDT	ГОСТ ISO 661—2016 «Жиры и масла животные и растительные. Приготовление пробы для испытания»
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - IDT — идентичные стандарты.		

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: <http://www.iupac.org/publications/pac/1991/pdf/6308x1163.pdf>)

Редактор *А.Е. Минкина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 02.12.2019. Подписано в печать 06.12.2019. Формат 60×84¹/₈. Гарнитура Ариал
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,48.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Поправка к ГОСТ ISO 16931—2014 Жиры и масла животные и растительные. Определение содержания полимеризованных триацилглицеринов методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ)

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Узбекистан	UZ	Узстандарт

(ИУС № 6 2019 г.)