

МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ

**ISO
18252**

**IDF
200**

Первое издание
2006-02-01

Жир молочный обезвоженный. Определение стеринового состава методом газожидкостной хроматографии (стандартный метод)

*Anhydrous milk fat – Determination of sterol composition by gas liquid
chromatography (Routine method)*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.itech.ai)

ISO 18252:2006

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/f61ba2ad-53d4-4471-ad79-386217e72345/iso-18252-2006>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочные номера
ISO 18252:2006(R)
IDF 200:2006(R))

© ISO и IDF 2006

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или вывести на экран, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на загрузку интегрированных шрифтов в компьютер, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 18252:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f61ba2ad-53d4-4471-ad79-386217e72345/iso-18252-2006>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO и IDF 2006

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO или IDF по соответствующему адресу, указанному ниже.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

International Dairy Federation
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Brussels
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	1
4 Принцип	2
5 Реагенты	2
6 Аппаратура	3
7 Отбор проб	5
8 Приготовление пробы для испытания	6
9 Процедура	6
9.1 Стандартные растворы стерина	6
9.2 Испытуемый образец	6
9.3 Омыление	6
9.4 Экстракция неомыляемого вещества	6
9.5 Качественный анализ	7
9.6 Количественный анализ	7
10 Прецизионность	8
10.1 Межлабораторное испытание	8
10.2 Повторяемость	9
10.3 Воспроизводимость	9
11 Протокол испытания	9
Приложение А (информативное) Пример газожидкостного хроматографического анализа	10
Приложение В (информативное) Результаты межлабораторного испытания	11
Библиография	13

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Проекты международных стандартов разрабатываются по правилам, указанным в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Главная задача технических комитетов состоит в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Обращается внимание на возможность патентования некоторых элементов данного международного стандарта. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо или всех таких патентных прав.

Международный стандарт ISO 18252|IDF 200 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной федерацией молочных продуктов (IDF). Он публикуется совместно ISO и IDF.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f61ba2ad-53d4-4471-ad79-386217e72345/iso-18252-2006>

Предисловие

Международная федерация производства молочных продуктов (IDF) является всемирной федерацией молочного сектора в национальных комитетах каждой страны-члена IDF. Каждый национальный комитет имеет право быть представленным в постоянных комитетах IDF, выполняющих техническую работу. IDF сотрудничает с ISO в разработке стандартных методов анализа и отбора образцов молока и молочных продуктов.

Проекты международных стандартов, принятые рабочими группами и постоянными комитетами рассылаются национальным комитетам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 50 % национальных комитетов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего международного стандарта могут быть объектом патентных прав. ISO не может нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

Международный стандарт ISO 18252|IDF 200 подготовлен Международной федерацией молочных продуктов (IDF) и Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*. Этот стандарт публикуется совместно ISO и IDF.

Вся работа проделана совместной группой экспертов ISO-IDF по *Гармонизации* Постоянного комитета по *Основным компонентам молока* при поддержке руководителей этого проекта, г-жи M. Juarez (ES) и г-жи G. Contarini (IT).

ISO 18252:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f61ba2ad-53d4-4471-ad79-386217e72345/iso-18252-2006>

Жир молочный обезвоженный. Определение стеринового состава методом газожидкостной хроматографии (стандартный метод)

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Использование этого международного стандарта может включать вредные материалы, операции и оборудование. Целью стандарта не является рассмотрение всех проблем безопасности, связанных с его использованием. Установление правил по безопасности и защите здоровья и определение применимости регулирующих ограничений перед его использованием входит в обязанности пользователя этого стандарта.

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает стандартный метод газожидкостной хроматографии для определения стеринового состава в обезвоженном молочном жире, экстрагированном из молочных продуктов непосредственно на неомыляемом веществе, без очистки и дериватизации.

Первой целью этого международного стандарта является количественная оценка холестерина, который составляет около 98 % стериновой фракции в чистом молочном жире. Кроме того в случае анализа молочного жира в смеси растительных жиров установленная процедура позволяет сделать оценку наиболее важных фитостеринов. Процедура подтверждена на образцах молочного жира, содержащих приблизительно от 28 % до 32 % растительного жира.

Из-за отсутствия этапа очистки, которая позволяет полностью удалить интерферирующие соединения из неомыляемого вещества, особое внимание следует обратить при использовании этого метода на проверку чистоты молока неизвестного происхождения. В случае сомнительных результатов можно использовать эталонный метод, описанный в ISO 12078|IDF 159.

2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 3696:1987, *Вода для лабораторного анализа. Технические условия и методы испытания*

ISO 14156|IDF 172, *Молоко и молочные продукты. Методы экстракции липидов и липорастворимых составов*

3 Термины и определения

Применительно к этому документу используются следующие термины и определения.

3.1

стериновый состав
sterol composition

массовая доля веществ, определенная процедурой, установленной в этом международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Стериновый состав можно выражать или в миллиграммах на 100 г жира или в процентах общего содержания стерина.

4 Принцип

5 α -холестан добавляют к испытываемому образцу в качестве внутреннего эталона. Жир омыляется раствором гидроксида калия в метаноле. Неомыляемое вещество экстрагируют диэтиловым эфиром. Его концентрируют и определяют методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Отдельные стеринны идентифицируют путем сличения со временем удержания эталонного образца. Стеринны определяют количественно посредством ссылки на внутренний эталон.

5 Реагенты

Используют реагенты только признанной аналитической чистоты, если нет других указаний.

5.1 Вода, соответствующая классу 2 согласно ISO 3696:1987.

5.2 Этанол (C₂H₅OH), абсолютный.

5.3 Метанол (CH₃OH), содержащий массовую долю воды $\leq 0,5$ %.

5.4 Реагент омыления, раствор гидроксида калия в метаноле, $c(\text{KOH}) = 2$ моль/л.

Растворяют 11,2 г KOH в 100 мл метанола (5.3) и хорошо перемешивают.

5.5 Сульфат натрия (Na₂SO₄), безводный.

5.6 Диэтиловый эфир (C₂H₅OC₂H₅), не содержащий пероксидов.

5.7 *n*-Гексан [CH₃(CH₂)₄CH₃].

5.8 5 α -Холестан, чистотой 99 %.

5.9 Стандартный раствор 5 α -холестана.

Точно отвешивают 60 мг 5 α -холестана (5.8) в 100-мл мерную колбу с одной меткой (6.4). Разбавляют до метки 100 мл *n*-гексаном (5.7)/этанолом (5.2) в отношении 1:10 или *n*-гексаном (5.7) и перемешивают.

Стандартный раствор 5 α -холестана можно хранить в холодильнике в течение 1 месяца.

5.10 Холестерин, чистотой 99 %.

5.11 Стандартный раствор холестерина.

Точно отвешивают 60 мг холестерина (5.10) в 100-мл мерную колбу с одной меткой (6.4). Разбавляют до метки 100 мл этанолом (5.2) или *n*-гексаном (5.7) и перемешивают.

Стандартный раствор холестерина можно хранить в холодильнике в течение 1 месяца.

5.12 Кампестерин, чистотой 65 %.

5.13 Стандартный раствор кампестерина.

Точно отвешивают 10 мг кампестерина (5.12) в 100-мл мерную колбу с одной меткой (6.4). Разбавляют до метки 100 мл *n*-гексаном (5.7) и перемешивают.

Стандартный раствор кампестерина можно хранить в холодильнике в течение 1 месяца.

5.14 Стигмастерин, чистотой 95 %.

5.15 Стандартный раствор стигмастерина.

Точно отвешивают 10 мг стигмастерина (5.14) в 100-мл мерную колбу с одной меткой (6.4). Разбавляют до метки 100 мл *n*-гексаном (5.7) и перемешивают.

Стандартный раствор стигмастерина можно хранить в холодильнике в течение 1 месяца.

5.16 β -Ситостерин, чистотой 95 %.

5.17 Стандартный раствор β -ситостерина.

Точно отвешивают 10 мг β -ситостерина (5.16) в 100-мл мерную колбу с одной меткой (6.4). Разбавляют до метки 100 мл *n*-гексаном (5.7) и перемешивают.

Стандартный раствор β -ситостерина можно хранить в холодильнике в течение 1 месяца.

ПРИМЕЧАНИЕ Поскольку стандартные растворы фитостеринов (5.13, 5.15 and 5.17) используются только для количественной оценки, их можно заменить стеринами, приготовленными из соевого масла, включающими кампестерин, стигмастерин и β -ситостерин в качестве главных компонентов.

6 Аппаратура

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Поскольку определение включает использование летучих воспламеняемых растворителей, применяемые электрические приборы должны соответствовать законодательству относительно опасностей при использовании таких растворителей.

Обычная лабораторная аппаратура и, в частности, следующая.

6.1 Сушильный шкаф, поддерживаемый при температуре от 50 °C до 70 °C.

6.2 Аналитические весы, взвешивающие с точностью до 1 мг, при считываемости до 0,1 мг.

6.3 Круглодонные колбы, с шлифованным горлом, емкостью 100 мл.

6.4 Мерные колбы с одной меткой, емкостью 100 мл.

6.5 Мерные пипетки, емкостью 10 мл.

6.5 Пипетки с одной меткой, емкостью 1 мл.

6.7 Водяная баня, поддерживаемая при 50 °C $\pm$ 2 °C и при кипении.

6.8 Дефлегматор, для присоединения к круглодонной колбе (6.3).

6.9 Делительные воронки, емкостью 100 мл.

6.10 Дозатор растворителей или мерные цилиндры, емкостью 10 мл и 20 мл.

6.11 Дистилляционный или выпарной аппарат (например, роторный вакуумный выпарной аппарат), для дистилляции или выпаривания растворителей, поддерживающий все температуры вплоть до кипения.

6.12 Стекланные воронки, диаметром 100 мм.

6.13 Сухая фильтровальная бумага, гофрированная, высокой прочности, диаметром 200 мм.

6.14 Ампулы, конусообразная внутренняя часть, емкостью 5 мл and 10 мл.

6.15 Источник азота, с чистотой газа как минимум 99 %.

6.16 Пробирка, с заворачивающейся крышкой на политетрафторэтиленовой прокладке, емкостью 50 мл.

6.17 Газожидкостная хроматография.

6.17.1 Инжектор.

Инжектор испарительного типа (щелевой/бесщелевой), который оснащен термостойкой перегородкой, поддерживается при температуре на 30 °C выше максимальной температуры печи. В случае холодного инжектора, встроенного в колонку, инжектор поддерживается при температуре на несколько градусов ниже температуры кипения растворителя.

6.17.2 Печь, работающая при температуре, запрограммированной на диапазон от 50 °C до 320 °C.

6.17.3 Колонка, капиллярная колонка из кварцевого стекла.

Для получения успешного разделения стерина можно использовать различные типы стационарной фазы, толщину пленки, длину и диаметр колонки. В любом случае выбранная колонка должна обеспечивать полное разделение между пиком растворителя и 5 α -холестаном (т.е. 5 α -холестан не должен элюировать при расширении линии растворителя), так же как и разрешение по базисной линии между пиками холестерина, каместерина, стигмасетрина и β -ситосетрина. Более того, никакого размывания базисной линии не должно появиться в ходе всего газохроматографического (GC) цикла.

Пример правильного GC профиля, полученного при использовании рабочих условий, приведенных в 6.18.2, показан на Рисунке А.1.

ПРИМЕЧАНИЕ Коммерческие стационарные фазы, содержащие диметилполисилоксан или диметилполисилоксан вместе с различным процентным содержанием фенила/цианопропила-полисилоксана, являются подходящими.

6.17.4 Пламенно-ионизационный детектор, нагреваемый до температуры на 30 °C выше окончательной температуры колонковой печи.

6.17.5 Газ-носитель, азот, гелий или водород, чистотой как минимум 99,999 %

6.17.6 Другие газы, свободные от органических примесей (C_nH_m ниже 1 части на миллион), азот или водород, чистотой как минимум 99,995 %, и искусственный воздух.

6.17.7 Инжекционный шприц, емкостью 1 мкл до 10 мкл.

6.17.8 Интеграционная система, предпочтительно компьютеризованная.

6.18 Газохроматографические условия

Прибор монтируют согласно инструкциям изготовителя. Температура печи и течение газа-носителя зависят от выбранной колонки и от принятой инжекционной системы. Приведенные ниже примеры показывают условия, применяемые для щелевых и встроенных инжекционных систем.

6.18.1 Щелевой инжектор.

Пример условий, применяемых для щелевого инжектора:

- a) Газ-носитель: гелий;
- b) Давление в верхней части колонки: 90 кПа;
- c) Колонка: капиллярная колонка из кварцевого стекла, длиной 25 м, внутренним диаметром 0,32 мм, с толщиной пленки 0,25 мкм;
- d) Неподвижная фаза: 5 % фенила и 95 % диметилполисилоксана;
- e) Температура колонки: изотермическая, устанавливается на 280 °C;
- f) Температура детектора: устанавливается на 310 °C;
- g) Температура инжектора: устанавливается на 310 °C;
- h) Щелевое отношение: отношение 1:40;
- i) Инжектированный образец: 0,5 мкл.

6.18.2 Встроенный инжектор.

Пример условий, применяемых для встроенного инжектора:

- a) Газ-носитель: водород;
- b) Давление в верхней части колонки: 30 кПа;
- c) Колонка: капиллярная колонка из кварцевого стекла, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, с толщиной пленки 0,25 мкм;
- d) Неподвижная фаза: 5 % фенила и 95 % диметилполисилоксана;
- e) Температура колонки: устанавливается начальная температура 60 °C на 2 мин, устанавливается первый градиент при 40 °C в мин, увеличение температуры прекращается при 220 °C за 2 мин, устанавливается второй градиент при 5 °C в мин, увеличение температуры прекращается при 310 °C;
- f) Температура детектора: 330 °C;
- g) Инжектированный образец: 1 мкл.

7 Отбор проб

В лабораторию должна быть отправлена представительная проба. Ее следует оберегать от повреждений или изменений во время транспортировки или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в данном международном стандарте. Рекомендованный метод отбора проб дан в ISO 707/IDF 50.