
**Жиры и масла животные и
растительные. Определение
полимеризованных
триацилглицеринов с помощью
высокоэффективной эксклюзионной
хроматографии (HPSEC)**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of polymerized
triacylglycerols by high-performance size-exclusion chromatography
(HPSEC)*

ISO 16931:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6de3e/iso-16931-2009>

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



Ссылочный номер
ISO 16931:2009(R)

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 16931:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6dc3e/iso-16931-2009>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2009

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 по соответствующему адресу, указанному ниже, или комитета-члена ISO в стране заявителя.

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

Опубликовано в Швейцарии

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. ISO осуществляет тесное сотрудничество с международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

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.

ISO 16931 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 11, *Животные и растительные жиры и масла*.

Это второе издание отменяет и заменяет первое издание (ISO 16931:2001).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6de3e/iso-16931-2009>

Жиры и масла животные и растительные. Определение полимеризованных триацилглицеринов с помощью высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (HPSEC)

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод с использованием высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (HPSEC) для определения содержания, в массовых долях, полимеризованных триацилглицеринов (PTAGs) в маслах и жирах, которые содержат не менее 3 % (по площадям пиков) этих полимеров. PTAGs (строго говоря, двумерные и олигомерные триацилглицерины) образуются при нагреве жиров и масел, и таким образом этот метод может применяться для оценки термической деградации обжарочных жиров после использования.

Этот метод применим к обжарочным жирам и жирам и маслам, которые были термически обработаны, при условии что содержание PTAGs составляет не менее 3 %. Его можно также применять для определения полимеров в жирах для животных кормов, хотя в этом случае используемый метод экстрагирования может повлиять на результат.

ПРИМЕЧАНИЕ Дальнейшие детали см. в ISO 6492^[4].

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 661, *Жиры и масла животные и растительные. Подготовка пробы для испытания*

3 Термины и определения

Применительно к этому документу используются следующие термины и определения.

3.1

полимеризованные триацилглицерины
polymerized triacylglycerols
PTAGs

составляющие нагретых жиров и масел, которые определяются методом HPSEC в условиях, установленных в этом международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание PTAGs выражено как процентная массовая доля, в граммах на 100 г, всех пиков, обусловленных элюированными полимеризованными и моно-, ди- и триацилглицеринами (PTAGs, MAGs, DAGs, и TAGs).

4 Сущность метода

Пробу тщательно смешивают с тетрагидрофураном (THF) до образования однородной смеси, и PTAGs разделяют посредством гель-проникающей хроматографии согласно молекулярному размеру. Соединения детектируют с помощью рефрактометрического детектора.

ПРИМЕЧАНИЕ Для лучшего разрешения используются последовательно две колонки (2 × 300 мм).

5 Реактивы

Используют реактивы только признанной аналитической чистоты.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Обращается внимание на регламент, который устанавливает процедуры работы с опасными веществами. Должны соблюдаться технические, организационные и индивидуальные меры безопасности.

5.1 Тетрагидрофуран (THF) для HPLC, возможно, 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 мг до 300 мг масла к 10 мл 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

Обычное лабораторное оборудование и, в частности, следующее.

6.1 Сосуд для растворителя, вместимостью от 500 мл до 1 000 мл, с политетрафторэтиленовым линейным фильтром подвижной фазы.

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

6.3 Инжекционный клапан, с петлей 20 мкл и подходящим шприцем объемом от 50 мкл до 100 мкл, или с подходящей автоматической пипеткой.

6.4 Колонки из нержавеющей стали, длиной 2 × 300 мм, внутренним диаметром от 7,5 мм до 7,8 мм, наполненные гранулами, диаметром 5 мкм, высокоэффективного геля из сополимера стирола и дивинилбензола; размер пор 10 нм или 50 нм¹⁾.

ПРИМЕЧАНИЕ Хроматограммы в Приложении А показывают требуемое разрешение с двумя колонками.

Рекомендуется использование защитной колонки. Эффективность колонки, определяемая как число, *n*, теоретических пластин для мономерных TAGs, должна быть не менее 6 000.

Температура колонки поддерживается между 30 °C и 35 °C с помощью устройства управления.

1) 1 нм = 10 Å

При необходимости колонку можно хранить в толуоле (5.2), хотя опыт показал, что лучше систему держать в токе THF.

6.5 Детектор, рефрактометрический детектор с регулируемой температурой.

Идеальная температура для детектора должна быть чуть выше температуры колонки (от 30 °C до 35 °C).

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

6.7 Шприцы одноразового использования, вместимостью 1 мл.

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

6.9 HPLC шприц, вместимость от 50 мкл до 100 мкл.

7 Отбор проб

Важно, чтобы лаборатория получила пробу, которая является действительно репрезентативной и не была повреждена или изменена во время транспортировки или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в этом международном стандарте. Рекомендованный метод отбора проб дан в ISO 5555^[1].

8 Приготовление пробы для испытания

Проба для испытания должна быть приготовлена согласно ISO 661.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a140baf8-4c6f-4bdc-bdd1-7acd9ba6dc3e/iso-16931-2009>

9 Процедура

9.1 Запуск HPLC оборудования

Необходимо точно следовать рекомендациям изготовителей. Включить систему и закачать THF с объемным расходом между 0,5 мл/мин и 1 мл/мин, чтобы прочистить всю систему до инъекционного клапана. Соединить колонку с инъекционным клапаном и промыть его, используя 30 мл THF. Присоединить колонку к детекторной ячейке для пробы. Наполнить контрольную ячейку THF. Кстановить течение подвижной фазы на 0,5 мл/мин до 1,0 мл/мин. Подождать, пока не будет получена соответствующая стабилизация системы (без существенного отклонения базовой линии).

Если используется колонка, рекомендованная в этом подразделе, приемлемая стабилизация системы должна быть получена примерно через 15 мин. С другими наполнителями колонки стабилизация системы может быть более трудной. Например, изменение подвижной фазы должно быть ступенчатым от толуола к THF, с применением различных смесей, каждая из которых содержит на 25 % больше THF. Приемлемая стабилизация обычно может быть получена примерно через 12 ч.

2) Nalgene 4 mm Syringe Filter является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO. Можно использовать аналогичные продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.

Установлены следующие подходящие условия:

Колонка: PLgel³⁾ 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

Добавляют пробу для испытания в количестве от 100 мг до 300 мг (Раздел 8) к 10 мл THF и гомогенизируют. При необходимости фильтруют через нейлоновый фильтр (6.8). Вводят HPLC шприцем (6.9) от 20 мкл до 40 мкл этого раствора.

10 Выражение 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).

В подходящих условиях TAGs и PTAGs могут быть разделены с хорошим разрешением (Рисунки А.1 и А.2) даже при низких уровнях PTAGs.

Однако в некоторых случаях (которые, очевидно, связаны со сложными явлениями деградации) картина пиков, предшествующая пикам триацилглицеринов, может быть менее четкой с последующими трудностями для вычислений (Рисунок А.2).

10.2 Количественный анализ

Вычисление проводят методом внутренней нормализации, предполагая, что все компоненты пробы, которые элюируются, имеют один и тот же коэффициент отклика. Важно иметь прямую базовую линию.

Массовую долю, в граммах на 100 г PTAGs, w_{PTAG} , вычисляют по следующему уравнению:

$$w_{PTAG} = \frac{\sum A_{PTAG} \times 100}{\sum A_{tot}}$$

где

A_{PTAG} сумма площадей пиков для всех PTAGs;

A_{tot} сумма площадей пиков для всех ацилглицеринов (PTAGs, TAGs, DAGs, and MAGs).

Результаты выражают до одного десятичного знака.

3) PLgel является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO. Можно использовать аналогичные продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Детали межлабораторных испытаний прецизионности данного метода приведены в Приложении В. Значения, полученные из этих межлабораторных испытаний, можно применять только для тех диапазонов концентраций и матриц, которые указаны здесь.

11.2 Повторяемость

Когда значения двух независимых единичных испытаний, полученные с использованием одного и того же метода на идентичном испытательном материале в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором, использующим одно и то же оборудование, в короткий промежуток времени, находятся в диапазоне средних значений, приведенных в Таблице В.1, абсолютная разность между этими двумя полученными результатами, не должна превышать более чем в 5 % случаев предел повторяемости, r , который обычно можно вывести линейной интерполяцией из значений в Таблице В.1.

11.3 Воспроизводимость

Когда значения двух независимых единичных испытаний, полученные с использованием одного и того же метода на идентичном испытательном материале в различных лабораториях разными операторами, использующим разное оборудование, находятся в диапазоне средних значений, приведенных в Таблице В.1, абсолютная разность между этими двумя полученными результатами, не должна превышать более чем в 5 % случаев предел повторяемости, r , который обычно можно вывести линейной интерполяцией из значений в Таблице В.1.

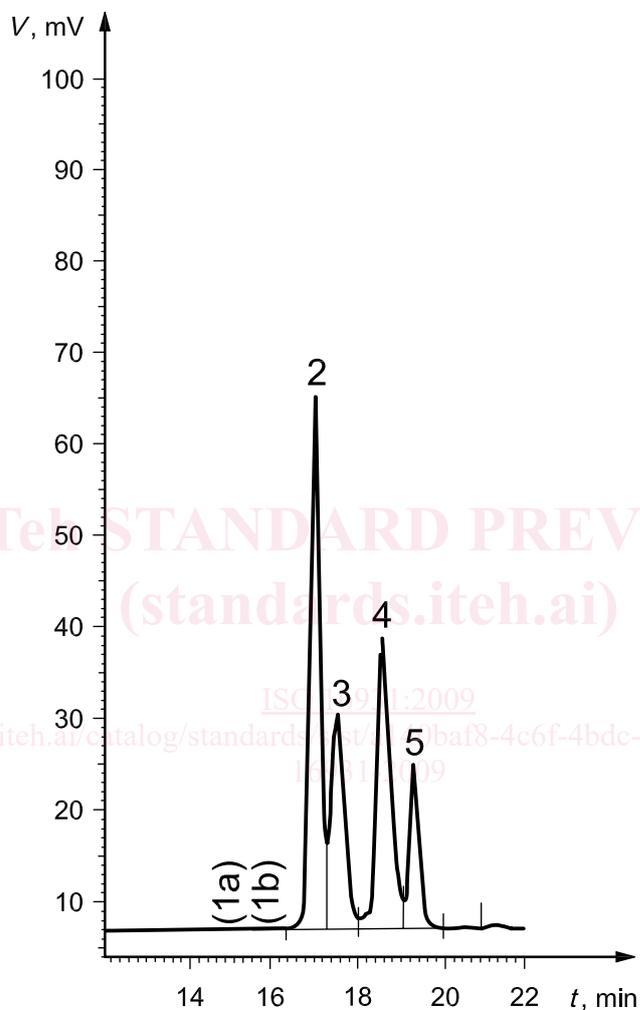
12 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать как минимум следующую информацию:

- a) всю информацию, требуемая для полной идентификации пробы;
- b) используемый метод отбора проб, если известно;
- c) используемый метод испытания со ссылкой на этот международный стандарт;
- d) все рабочие детали, не установленные в этом международном стандарте или рассматриваемые как произвольные, вместе с деталями любого инцидента, который мог бы повлиять на результат(ы);
- e) полученные результаты испытания или, если проверялась повторяемость, окончательный полученный результат.

Приложение А (информативное)

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 даны в 9.1.

Рисунок А.1 — HPSEC испытываемой смеси TAGs, DAGs, MAGs и свободных жирных кислот