
**Масла оливковые и оливковые масла
из жмыха. Определение содержания
2-глицерилмонопальмитата**

*Olive oils and olive-pomace oils — Determination of the 2-glycerol
monopalmitate content*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>

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



Ссылочный номер
ISO 12872:2010(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 смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на интегрированные шрифты и они не будут установлены на компьютере, 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, использованные 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 12872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2010

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

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Введение	v
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	1
4 Принцип	1
5 Реактивы	1
6 Аппаратура.....	2
7 Отбор проб.....	3
8 Подготовка пробы для испытания	3
9 Методика	4
9.1 Подготовительные стадии	4
9.2 Колоночная хроматография.....	4
9.3 Гидролиз под действием панкреатической липазы.....	5
9.4 Приготовление силилированных производных и газовая хроматография	5
9.5 Газовая хроматография	5
10 Выражение результатов	6
11 Прецизионность.....	6
11.1 Межлабораторное испытание.....	6
11.2 Повторяемость	6
11.3 Воспроизводимость	6
12 Протокол испытания.....	6
Приложение А (информативное) Хроматограммы	7
Приложение В (информативное) Результаты межлабораторного испытания	10
Приложение С (информативное) Приготовление и активность липазы	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 ISO, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные организации, правительственные и неправительственные, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO непосредственно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам электротехнической стандартизации.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, приведенными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные 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.

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

ISO 12872 разработан Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 11, *Животные и растительные жиры и масла*.

[ISO 12872:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>

Введение

Международный оливковый совет (ИОС) опубликовал документ COI/T.20/Doc. 23:2003^[6], который является составной частью *Торговых норм, применяемых к оливковому маслу и оливковому маслу, полученному из жмыха*. Документ COI/T.20/Doc. 23 применялся к оливковому маслу и оливковому маслу, полученному из жмыха, и использовался для установления различия между рафинированным оливковым маслом однократного прессования и нерафинированным оливковым маслом из жмыха. Оливковый жмых представляет собой остаточную пасту, которая все еще содержит переменное количество воды и масла после прессования или центрифугирования.

В 2008 году Совет ИОС представил этот документ ISO/TC 34/SC 11 для одобрения в качестве международного стандарта.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>

Масла оливковые и оливковые масла из жмыха. Определение содержания 2-глицерилмонопальмитата

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает методику определения содержания 2-глицерилмонопальмитата, в процентах массовой доли, в оливковом масле и в оливковом масле из жмыха, которые являются жидкими при температуре окружающей среды (20 °C).

ПРИМЕЧАНИЕ Этот международный стандарт разработан на основе документа COI/T.20/Doc. 23:2006^[6].

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. Приготовление пробы для испытания*

3 Термины и определения

Применительно к этому документу используются следующие термины и определения.

3.1

содержание 2-глицерилмонопальмитата **2-glyceryl monopalmitate content**

массовая доля 2-глицерилмонопальмитата в моноацилглицероловой фракции, определенного в соответствии с методом, установленным в этом международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание 2- глицерилмонопальмитата выражают в процентах.

4 Принцип

Подвергают масло после соответствующей подготовки действию панкреатической липазы. Имеет место частичный гидролиз, специфичный для положений 1 и 3 триацилглицероловой молекулы, поэтому в качестве продуктов реакции образуются 2-моноацилглицеролы. Определяют процентное содержание 2-глицерилмонопальмитата в моноацилглицероловой фракции после силилирования методом капиллярной газовой хроматографии.

5 Реактивы

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ — Выполняют любые местные регламентирующие правила, которые устанавливают требования к обращению с опасными веществами. Необходимо соблюдать технические, организационные и персональные меры безопасности.

При анализе, если не указано иначе, используют только реактивы признанного аналитического качества и дистиллированную или деминерализованную воду либо воду эквивалентной чистоты.

5.1 Силикагель, с размером частиц от 0,063 мм до 0,200 мм (70/280 меш), приготовленный следующим образом: помещают силикагель в фарфоровую чашку, сушат в сушильном шкафу при температуре 160 °С в течение 4 ч, затем охлаждают при температуре охлаждающей среды в эксикаторе. Добавляют объем воды, который эквивалентен 5 % массы силикагеля, следующим образом: взвешивают 152 г силикагеля в колбе Эрленмейера вместимостью 500 мл, добавляют 8 г воды, закрывают пробкой и осторожно гомогенизируют. Оставляют для отстаивания по меньшей мере на 12 ч перед использованием.

5.2 *n*-Гексан, хроматографического качества.

5.3 Изопропанол.

5.4 Смесь изопропанол-вода, объемные доли 50 мл/100 мл.

5.5 Панкреатическая липаза, активностью от 2,0 до 10 единиц липазы на миллиграмм (см. Приложение С).

5.6 Буферный раствор трис-(оксиметил)аминометана: готовят водный раствор (1 моль/л) с pH 8 и смешивают с концентрированной HCl, объемные доли 50 мл/100 мл.

5.7 Холат натрия, специального ферментативного качества, водный раствор, массовая доля 0,1 г/100 г.

Используют этот раствор в пределах 15 дней после приготовления.

5.8 Хлорид кальция, водный раствор, массовая доля 22 г/100 г.

5.9 Диэтиловый эфир, хроматографического качества.

5.10 Элюирующий растворитель: смесь *n*-гептан-диэтиловый эфир, объемная доля *n*-гексана 87 мл/100 мл и диэтилового эфира 13 мл/100 мл.

5.11 Гидроксид натрия, водный раствор, массовая доля 12 г/100 г.

5.12 Фенолфталеин, этанольный раствор, массовая концентрация 1 г/100 мл.

5.13 Газ-носитель: водород или гелий, хроматографического качества.

5.14 Вспомогательные газы: водород, не содержащий влаги и органических соединений, и синтетический воздух, газ хроматографического качества.

5.15 Реактив для силилирования: смесь пиридина, гексаметилдисилазана (HMDS) и триметилхлорсилана (TMCS); объемные доли: 9 мл/13 мл, 3 мл/13 мл и 1 мл/13 мл соответственно.

5.16 Стандартные пробы: чистые моноацилглицеролы и смеси моноацилглицеролов известного состава, аналогичного составу пробы.

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура и в частности следующая.

6.1 Колбы Эрленмейера, вместимостью 25 мл.

6.2 Химические стаканы, вместимостью 100 мл, 250 мл и 300 мл.

6.3 Стеклоаналитическая хроматографическая колонка, внутренним диаметром от 21 мм до 23 мм, длиной 400 мм, с мембраной и запорным краном.

- 6.4 Мерные цилиндры**, вместимостью 10 мл, 50 мл, 100 мл и 200 мл, ISO 4788^[2] класс А.
- 6.5 Круглодонные колбы**, вместимостью 100 мл и 250 мл.
- 6.6 Роторный испаритель.**
- 6.7 Центрифужные пробирки**, с коническим дном, вместимостью 10 мл и шлифованной стеклянной пробкой.
- 6.8 Центрифуга**, подходящая для пробирок вместимостью 10 мл и 100 мл.
- 6.9 Водяная баня**, способная поддерживать температуру $(40 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.
- 6.10 Градуированные пипетки**, вместимостью 1 мл и 2 мл, ISO 835^[1] класс А.
- 6.11 Шприц для подкожных инъекций**, вместимостью 1 мл.
- 6.12 Микрошприц**, вместимостью 100 мкл.
- 6.13 Делительная воронка**, вместимостью 1 000 мл.
- 6.14 Газовый хроматограф**, пригодный для использования с капиллярными колонками, оборудованный компонентами, указанными в 6.14.1 – 6.14.5.
- 6.14.1 Холодный инжектор для ввода проб непосредственно в колонку.**
- 6.14.2 Пламенно-ионизационный детектор.**
- 6.14.3 Термостат колонки**, способный поддерживать температуру в пределах $\pm 1 ^\circ\text{C}$.
- 6.14.4 Интегратор на основе компьютера.**
- 6.14.5 Капиллярная колонка из плавленого кварца**, длиной от 8 м до 12 м, внутренним диаметром от 0,25 мм до 0,32 мм, покрытая метилполисилоксаном или 5 % фенилметилполисилоксаном, толщиной пленки от 0,10 мкм до 0,30 мкм, пригодная для использования при 370 °С.
- 6.15 Микрошприц**, вместимостью 10 мкл, с закаленной иглой, минимальной длиной 7,5 см, пригодный для ввода проб непосредственно в колонку.

7 Отбор проб

Отбор проб не включен в метод, установленный в этом международном стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приводится в ISO 5555^[3].

Важно поставлять в лабораторию действительно представительную пробу, которая не была подвергнута порче или изменению во время транспортировки или хранения.

8 Подготовка пробы для испытания

Готовят пробу для испытания в соответствии с ISO 661. В случае масел со свободной кислотностью свыше 3 % требуется стадия нейтрализации, как указано здесь.

Вводят 50 г масла в делительную воронку вместимостью 1 000 мл (6.13) и растворяют его в 200 мл *n*-гексана (5.2). Добавляют 100 мл изопропанола (5.3) и объем раствора гидроксида натрия (5.11), соответствующий свободной кислотности масла плюс еще 5 %. Энергично встряхивают в течение 1 мин, добавляют 100 мл воды, снова встряхивают и оставляют для отстаивания.

После разделения удаляют нижний мыльный слой. Также удаляют какой-либо промежуточный слой слизи и нерастворимых веществ, которые часто образуются. Промывают раствор масла в *n*-гексане

последовательными порциями по 50 мл – 60 мл смеси изопропанол-вода (5.4) до тех пор, пока промытая фаза не будет нейтральной по отношению к фенолфталеину (5.12).

Удаляют большую часть гексана вакуумной перегонкой, например, с использованием роторного испарителя (6.6), и переносят масло в круглодонную колбу вместимостью 100 мл (6.5). Сушат его в вакууме до полного удаления растворителя.

В конце этой процедуры проверяют, что кислотность масла ниже 0,5 %.

9 Методика

9.1 Подготовительные стадии

9.1.1 Вводят 1,0 г масла, подготовленного в случае необходимости в соответствии с Разделом 8, в колбу Эрленмейера вместимостью 25 мл (6.1) и растворяют его в 10 мл элюирующего растворителя (5.10). Оставляют раствор для отстаивания по меньшей мере на 15 мин перед началом хроматографии на колонке с силикагелем.

Если раствор мутный, центрифугируют его для обеспечения оптимальных условий для хроматографии.

Могут использоваться готовые к употреблению твердофазные экстракционные (SPE) гильзы с 500 мг силикагеля.

9.1.2 Заполняют хроматографическую колонку (6.3) приблизительно 30 мл элюирующего растворителя (5.10), вставляя на дно колонки с помощью стеклянной палочки пробку из хлопковой ваты; нажимают для удаления воздуха.

В химическом стакане готовят суспензию из 25 г силикагеля (5.1) примерно в 80 мл элюирующего растворителя и переносят ее в колонку через воронку.

Удостоверяются в том, что весь силикагель перенесен в колонку; промывают элюирующим растворителем, открывают запорный кран и дают возможность растворителю вытекать до тех пор, пока уровень растворителя не будет примерно на 2 мм выше уровня силикагеля.

9.2 Колоночная хроматография

9.2.1 Стандартная методика

Взвешивают 1,0 г подготовленной пробы для испытания (9.1.1) с точностью до 0,1 мг в колбу Эрленмейера вместимостью 25 мл (6.1).

Растворяют пробу в 10 мл элюирующего растворителя (5.10). Переносят раствор в хроматографическую колонку (9.1.2). Избегают перемещения поверхности колонки.

Открывают запорный кран и дают возможность раствору пробы вытекать до тех пор, пока он не достигнет уровня силикагеля. Элюируют с помощью 150 мл элюирующего растворителя. Регулируют поток со скоростью 2 мл/мин (150 мл должны проходить через колонку примерно за 60 – 70 мин).

Собирают элюат в предварительно взвешенную круглодонную колбу вместимостью 250 мл (6.5). Выпаривают растворитель под вакуумом и удаляют последние следы растворителя в потоке азота.

Взвешивают колбу и рассчитывают извлеченную массу по разности.

9.2.2 Методика с использованием готовых к употреблению SPE гильз

Вводят 1 мл раствора (9.1.1) в гильзы, предварительно обработанные 3 мл *n*-гексана (5.2). После просачивания раствора элюируют с помощью 4 мл элюирующего растворителя *n*-гептан-диэтиловый эфир (5.10). Собирают элюат в пробирку вместимостью 10 мл и выпаривают досуха в потоке азота.

Подвергают сухой остаток действию панкреатической липазы (5.5). Проверяют состав жирных кислот до и после прохождения через SPE гильзу.

9.3 Гидролиз под действием панкреатической липазы

9.3.1 Взвешивают 0,1 г масла в центрифужную пробирку (6.7). Добавляют 2 мл буферного раствора (5.6), 0,5 мл раствора холата натрия (5.7) и 0,2 мл раствора хлорида кальция (5.8), хорошо встряхивая после каждого добавления. Закрывают пробирку стеклянной пробкой и помещают ее на водяную баню (6.9) при температуре $(40 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

9.3.2 Добавляют 20 мг липазы (5.5), тщательно перемешивают (избегая смачивания пробки) и помещают на водяную баню точно на 2 мин, затем удаляют, энергично встряхивают точно в течение 1 мин и охлаждают.

9.3.3 Добавляют 1 мл диэтилового эфира (5.9), закрывают пробкой и энергично встряхивают, затем центрифугируют и переносят эфирный раствор в другую чистую сухую пробирку с помощью микрошприца.

9.4 Приготовление силилированных производных и газовая хроматография

С помощью микрошприца отбирают 100 мкл раствора (9.3.3) и переносят в пробирку с коническим дном вместимостью 10 мл (6.7). Удаляют растворитель в слабом потоке азота, добавляют 200 мкл реактива для силилирования (5.15), закрывают пробирку пробкой и оставляют для отстаивания на 20 мин.

Через 20 мин добавляют 5 мл *n*-гексана (5.2). В это время раствор готов для газовой хроматографии.

9.5 Газовая хроматография

9.5.1 Рабочие условия

Рекомендуются следующие рабочие условия: [2872:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1157786269/iso-12872-2010)

- a) температура инжектора: ниже температуры кипения растворителя ($68 ^\circ\text{C}$);
- b) температура детектора: $350 ^\circ\text{C}$;
- c) программирование температуры термостата: изотермическое при $60 ^\circ\text{C}$ в течение 1 мин; затем повышают температуру со скоростью $15 ^\circ\text{C}/\text{мин}$ до $180 ^\circ\text{C}$, а потом со скоростью $5 ^\circ\text{C}/\text{мин}$ до $340 ^\circ\text{C}$; в конце поддерживают температуру при $340 ^\circ\text{C}$ в течение 20 мин;
- d) газ-носитель: водород или гелий, отрегулированный до подходящей линейной скорости, чтобы получить степень разделения пиков, указанную в Приложении А;
- e) время удерживания триацилглицерола C_{54} : (40 ± 5) мин (см. Рисунок А.2);
- f) вводимый объем: от 0,5 мкл до 1 мкл раствора, полученного в 9.4.

Оптимизируют условия разделения для достижения требуемого разделения пиков. Проверяют, чтобы высота пика 2-глицерилмонопальмитата по меньшей мере равнялась 10 % максимального значения шкалы.

9.5.2 Идентификация пиков

Идентифицируют отдельные моноацилглицеролы путем сравнения полученных времен удерживания с временами удерживания, полученными для стандартных смесей моноацилглицеролов, анализируемых в тех же самых условиях.

9.5.3 Количественная оценка

Рассчитывают площадь каждого пика с помощью электронного интегратора.