

---

---

**Жиры и масла животные и  
растительные. Определение  
полициклических ароматических  
углеводородов методом донорно-  
акцепторной комплексной  
хроматографии в режиме онлайн и  
высокоэффективной жидкостной  
хроматографией (HPLC) с  
флуоресцентным обнаружением**

*Animal and vegetable fats and oils – Determination of polycyclic  
aromatic hydrocarbons by on-line donor-acceptor complex  
chromatography and HPLC with fluorescence detection*

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



Ссылочный номер  
ISO 22959:2009(R)

© ISO 2009

**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.

Sample Document

get full document from [standards.iteh.ai](https://standards.iteh.ai)



**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, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://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 Сущность метода .....                                                                                                                  | 2  |
| 5 Реактивы, материалы и стандарты .....                                                                                                  | 3  |
| 6 Аппаратура .....                                                                                                                       | 5  |
| 7 Отбор проб и подготовка образцов для испытания .....                                                                                   | 5  |
| 8 Подготовка образцов .....                                                                                                              | 6  |
| 9 Проведение испытания .....                                                                                                             | 7  |
| 9.1 Анализ HPLC .....                                                                                                                    | 7  |
| 9.2 Идентификация РАН .....                                                                                                              | 7  |
| 10 Расчет отдельных РАН .....                                                                                                            | 8  |
| 11 Данные валидации метода .....                                                                                                         | 8  |
| 11.1 Точность .....                                                                                                                      | 8  |
| 11.2 Внутрिलाбораторная прецизионность .....                                                                                             | 8  |
| 11.3 Возврат .....                                                                                                                       | 9  |
| 11.4 Динамический диапазон .....                                                                                                         | 9  |
| 11.5 Предел количественного анализа .....                                                                                                | 9  |
| 12 Прецизионность .....                                                                                                                  | 9  |
| 12.1 Международное межлабораторное испытание .....                                                                                       | 9  |
| 12.2 Повторяемость .....                                                                                                                 | 9  |
| 12.3 Воспроизводимость .....                                                                                                             | 9  |
| 13 Протокол испытания .....                                                                                                              | 9  |
| Приложение А (информативное) Примеры отдельных частей системы HPLC .....                                                                 | 10 |
| Приложение В (информативное) Пример рабочих условий для насосов системы HPLC .....                                                       | 11 |
| Приложение С (информативное) Пример рабочих условий термостата колонки и детектора системы HPLC .....                                    | 12 |
| Приложение D (информативное) Пример программы автоматического дозатора системы HPLC .....                                                | 13 |
| Приложение E (информативное) Соединение трубок в системе HPLC .....                                                                      | 14 |
| Приложение F (информативное) Хроматограмма стандартного калибровочного образца .....                                                     | 15 |
| Приложение G (информативное) Прецизионность определения для подсолнечного масла, диапазон концентраций от 0,1 мкг/кг до 3,5 мкг/кг ..... | 16 |
| Приложение H (информативное) Прецизионность определения для оливкового масла, диапазон концентраций от 0,1 мкг/кг до 3,5 мкг/кг .....    | 17 |
| Приложение I (информативное) Прецизионность определения для соевого масла, диапазон концентраций от 0,1 мкг/кг до 3,5 мкг/кг .....       | 18 |
| Приложение J (информативное) Прецизионность определения для кокосового масла, диапазон концентраций от 0,1 мкг/кг до 3,5 мкг/кг .....    | 19 |
| Приложение K (информативное) Межлабораторное испытание .....                                                                             | 20 |
| Библиография .....                                                                                                                       | 22 |

## Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) представляет собой всемирную федерацию, состоящую из национальных органов по стандартизации (комитеты-члены ISO). Работа по разработке международных стандартов обычно ведется Техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в теме, для решения которой образован данный технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные организации, правительственные и неправительственные, поддерживающие связь с ISO, также принимают участие в работе. ISO тесно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, установленными в Части 2 Директив ISO/IEC.

Основное назначение технических комитетов заключается в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые Техническими комитетами, направляются комитетам-членам на голосование. Для их опубликования в качестве международных стандартов требуется одобрение не менее 75 % комитетов-членов, участвовавших в голосовании.

Внимание обращается на тот факт, что отдельные элементы данного документа могут составлять предмет патентных прав. ISO не несет ответственность за идентификацию каких-либо или всех подобных патентных прав.

ISO 22959 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 11, *Жиры и масла животные и растительные*.

get full document from [standards.iteh.ai](https://standards.iteh.ai)

## Введение

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) образуются во время пиролизических процессов, таких как неполное сгорание органических веществ или имеют петрогенное происхождение (минеральные масла). Пищевые жиры и масла могут быть загрязнены из окружающей среды и/или на этапе обработки перед рафинированием. Присутствие ПАУ в жирах и маслах касается здоровья, поскольку эти соединения являются канцерогенными. Различные уровни содержания ПАУ наблюдаются в сырых пищевых маслах. Рафинирование масел (деодорирование, осветление, обработка на активированном угле) в соответствующих условиях сокращает содержание отдельных ПАУ в микрограммах на килограмм. Известные методы анализа ПАУ в пищевых жирах и маслах включают сложную и трудоемкую экстракцию и процедуры очистки, чтобы выделить ПАУ, присутствующие в очень маленьких концентрациях.

С помощью донорно-акцепторной комплексной хроматографии (ДАКХ) ПАУ можно экстрагировать из разных матриц. ПАУ являются донорами электронов ( $\pi$ -электронов), а сильное взаимодействие ПАУ со стационарной фазой – акцептором электронов – дает в результате ПАУ и элюирование (в массе) других компонентов масла. Настоящий международный стандарт устанавливает автоматический метод в режиме он-лайн определения ПАУ в пищевых маслах и жирах, который можно легко применять как практический анализ. Этот метод включает сочетание LC-LC очистительной колонки ДАКХ с аналитической колонкой для разделения. ПАУ количественно определяют с помощью флуоресцентного обнаружения.

По сравнению с более старыми методами данный автоматический метод в режиме он-лайн значительно сокращает количество используемого растворителя и сохраняет массу времени. Очистка на колонке ДАКХ происходит быстро и выполняется в течение прохождения предыдущей пробой анализа с помощью HPLC (высокоэффективной жидкостной хроматографии). Общее время анализа для одной пробы составляет порядка 90 мин, по сравнению с традиционными методами, занимающими от 8 ч до 10 ч. Более того, система может работать по 24 ч/сутки. Наконец, устраняются потери летучих ПАУ, например, при испарении растворителя. Пределы количественного анализа 0,1 мкг/кг отдельных ПАУ в методе ДАКХ сохраняются, причём автоматически вносится поправка на возможный неполный выход, поскольку калибровочные образцы подвергаются такой же обработке, как и анализируемые пробы. Система использует традиционное оборудование для HPLC.

# Sample Document

get full document from [standards.iteh.ai](https://standards.iteh.ai)

# Жиры и масла животные и растительные. Определение полициклических ароматических углеводородов методом донорно-акцепторной комплексной хроматографии в режиме онлайн и высокоэффективной жидкостной хроматографией (HPLC) с флуоресцентным обнаружением

## 1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) для определения полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в пищевых жирах и маслах.

Этот метод был подтвержден для кокосового (CN), оливкового (OV), подсолнечного (SF), и соевого (BO) масла, и может применяться к другим маслам в зависимости от определения соответствующих параметров.

Самый низкий уровень определяемой концентрации ПАУ составляет 0,1 мкг/кг. Самое низкое из возможных количеств каждого ПАУ, который можно отличить от фонового шума, не определено. Подтвержденный диапазон концентраций, определяемых описанным методом, составляет от 0,1 мкг/кг до 3,5 мкг/кг для каждого отдельного ПАУ. Для проб, содержащих (легкие) ПАУ в концентрации > 3,5 мкг/кг, возможно разбавление для приведения содержимого в подтвержденный диапазон концентраций. Также возможно отрегулировать диапазон калибровочных кривых. Однако определение концентраций выше 3,5 мкг/кг не подтверждено.

ПАУ, которые можно определить данным методом, включают: антрацен, фенантрен, флуорантен, пирен, кризен, бензо[а]антрацен, бензо[е]пирен, бензо[а]пирен, перилен, бензо[ghi]перилен, антантрен, дибензо[а,h]антрацен, коронен, индено[1,2,3-*cd*]пирелен, бензо[а]флуорантен, бензо[*b*]флуорантен, бензо[*k*]флуорантен.

## 2 Нормативные ссылки

Нижеследующие документы являются обязательными для применения данного документа. Для датированных ссылок действительно только указанное издание. В случае недатированных ссылок используется последняя редакция документа, на который дается ссылка (включая все изменения).

ISO 661, *Жиры и масла животные и растительные. Приготовление пробы для анализа*

## 3 Термины и определения

Применительно к данному документу используются следующие термины и определения.

### 3.1

**полициклический ароматический углеводород**  
**polycyclic aromatic hydrocarbon**

**ПАУ**

соединение, которое содержит два или более конденсированных (слитых) ароматических углеводородных колец, содержание которых можно определить по методу, установленному в данном международном стандарте.

**3.2**  
**легкий полициклический ароматический углеводород**  
**light polycyclic aromatic hydrocarbon**  
 соединение, содержащее от двух до четырех конденсированных (слитых) ароматических углеводородных колец

## ПРИМЕРЫ

| Соединение                              | No. CAS  | Соединение    | No. CAS  | Соединение | No. CAS  |
|-----------------------------------------|----------|---------------|----------|------------|----------|
| аценафтен                               | 83-32-9  | бензо[е]пирен | 192-97-2 | нафталин   | 50-32-8  |
| аценафтилен                             | 208-96-8 | кризен        | 218-01-9 | фенантрен  | 85-01-8  |
| антрацен                                | 120-12-7 | флуорантен    | 206-44-0 | пирен      | 129-00-0 |
| бензо[а]антрацен<br>(1,2-бензоантрацен) | 56-55-3  | флуорен       | 86-73-7  |            |          |

**3.3**  
**тяжелый полициклический ароматический углеводород**  
**heavy polycyclic aromatic hydrocarbon**  
 соединение, содержащее пять и более конденсированных (слитых) ароматических углеводородных колец

## ПРИМЕРЫ

| Соединение                        | No. CAS  | Соединение                               | No. CAS  | Соединение                                             | No. CAS  |
|-----------------------------------|----------|------------------------------------------|----------|--------------------------------------------------------|----------|
| бензо[а]пирен<br>(1,2-бензопирен) | 50-32-8  | бензо[к]флуорантен                       | 207-08-9 | дibenzo[а, h]антрацен<br>(1,2,5,6-<br>дibenзоантрацен) | 53-70-3  |
| бензо[а]флуорантен                | 203-33-8 | бензо[ghi]перилен<br>(1,12-бензоперилен) | 191-24-2 | индено[1,2,3-сd]пирен                                  | 193-39-5 |
| бензо[б]флуорантен                | 205-99-2 | коронен                                  | 191-07-1 | перилен                                                | 198-55-0 |

**3.4**  
**содержание полициклических ароматических углеводородов**  
**polycyclic aromatic hydrocarbon content**  
 массовая доля полициклического ароматического углеводорода или смеси полициклических ароматических углеводородов в матрице

ПРИМЕРЫ Содержание отдельного полициклического ароматического углеводорода; содержание легкого полициклического ароматического углеводорода; содержание тяжелого полициклического ароматического углеводорода.

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание выражается как массовая доля в микрограммах на килограмм.

## 4 Сущность метода

Содержание ПАУ в пищевых маслах определяют посредством сочетания в режиме он-лайн донорно-акцепторной комплексной хроматографии (DACC) и HPLC с флуоресцентным обнаружением. Пробы масла элюируют через колонку с модифицированной стационарной фазой (колонка DACC), которая действует как акцептор электронов. Эта колонка будет удерживать ПАУ (доноры электронов) при взаимодействии  $\pi$ - $\pi$ . После элюирования масла ПАУ переносят в режиме он-лайн в аналитическую колонку с обратной фазой. Отдельные ПАУ обнаруживают при различных длинах волн. Время удерживания ПАУ используются для идентификации отдельных соединений. Уровни концентрации ПАУ в пробах масла рассчитывают по внешней калибровке.

## 5 Реактивы, материалы и стандарты

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — В данном методе применяются вредные вещества. Необходимо соблюдать обычную лабораторную технику безопасности. Все РАН считаются канцерогенными веществами. Поэтому важно, чтобы подготовка исходных растворов, стандартных разведений и образцов для калибровочной кривой (5.3) выполнялась преимущественно в лаборатории 2 класса. Кроме того, необходимо использовать защитные перчатки и халат на этих этапах. Загрязненную ткань и перчатки необходимо собирать в пластиковый пакет и герметично закрывать перед перемещением.

### 5.1 Реактивы.

**5.1.1 Ацетонитрил**, класса HPLC, массовая доля  $w[\text{C}_2\text{H}_3\text{N}] > 99,9 \%$ .

**5.1.2 Этилацетат**, класса HPLC, массовая доля  $w[\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2] > 99,8 \%$ .

**5.1.3 2-пропанол**, класса HPLC, массовая доля  $w[\text{C}_3\text{H}_8\text{O}] > 99,9 \%$ .

**5.1.4 Toluene**, класса HPLC, массовая доля  $w[\text{C}_7\text{H}_8] > 99,9 \%$ .

**5.1.5 Вода**, класса HPLC.

### 5.2 Стандартные образцы.<sup>1)</sup>

**5.2.1 Антрацен**, массовая доля  $w[\text{C}_{14}\text{H}_{10}] > 99 \%$ .

**5.2.2 Фенантрен**, массовая доля  $w[\text{C}_{14}\text{H}_{10}] > 99 \%$ .

**5.2.3 Флуорантен**, массовая доля  $w[\text{C}_{16}\text{H}_{10}] > 99 \%$ .

**5.2.4 Пирен**, массовая доля  $w[\text{C}_{16}\text{H}_{10}] > 99 \%$ .

**5.2.5 Кризен**, массовая доля  $w[\text{C}_{18}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.6 Бензо [a]антрацен** (1,2-бензоантрацен), массовая доля  $w[\text{C}_{18}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.7 Бензо [e]пирен**, массовая доля  $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.8 Бензо [a]пирен** (1,2-бензопирен), массовая доля  $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.9 Перилен**, массовая доля  $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.10 Бензо [ghi]перилен** (1,12-бензоперилен), массовая доля  $w[\text{C}_{22}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.11 Антантрен**, массовая доля  $w[\text{C}_{22}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.12 Дибензо[a,h]аантрацене** (1,2,5,6-дибензоантрацен), массовая доля  $w[\text{C}_{22}\text{H}_{14}] > 99 \%$ .

**5.2.13 Коронен**, массовая доля  $w[\text{C}_{24}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.14 Индено[1,2,3-cd]пирен**, массовая доля  $w[\text{C}_{22}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.15 Бензо[a]флуорантен**, массовая доля  $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.16 Бензо[b]флуорантен**, массовая доля  $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

**5.2.17 Бензо[k]флуорантен**, массовая доля  $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$ .

1) IRMM (<http://www.irmm.jrc.be>) и Sigma-Aldrich (<http://www.sigmaaldrich.com>) являются подходящими поставщиками. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не указывает на предпочтение со стороны ISO в отношении данной продукции. Можно использовать продукцию других производителей, если при этом получаются такие же результаты.