|  |
| --- |
| **ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ****(ЕАСС)****EURO–ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION****(EASC)** |
|  | **МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ****СТАНДАРТ** | **ГОСТ** **ISO 18363-3–** **202***(проект, RU,* *первая**редакция)* |

**ЖИРЫ И МАСЛА ЖИВОТНЫЕ И РАСТИТЕЛЬНЫЕ**

**Определение содержания сложных эфиров жирных кислот монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с применением ГХ/МС.**

**Часть 3**

 **Метод с использованием кислотной переэтерификации и измерение содержания 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола**

 **(ISO 18363-3:2024, IDT)**

*Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его принятия*

**Минск**

**Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации**

**202**

**Предисловие**

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

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 Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт жиров» (ВНИИЖиров) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 238 «Масла растительные и продукты их переработки»

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 202 г. № )

За принятие проголосовали:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Краткое наименование страны по МК(ИСО 3166) 004–97 | Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97 | Сокращенное наименованиенационального органа по стандартизации |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

1. Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 18363-3:2024 «Жиры и масла животные и растительные. Определение содержания сложных эфиров жирных кислот монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с применением ГХ/МС. Часть 3. Метод с использованием кислотной переэтерификации и измерение содержания 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола» [«Animal and vegetable fats and oils – Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS – Part 3: Method using acid transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol», IDT].

Международный стандарт разработан Подкомитетом SC 11 «Животные и растительные жиры и масла» Технического комитета ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

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

1. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ
2. Некоторые элементы настоящего стандарта могут быть объектом патентных прав. Международная организация по стандартизации (ISO) не несет ответственность за идентификацию некоторых или всех патентных прав.

*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»*

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным органам по стандартизации этих государств

**Содержание**

|  |  |
| --- | --- |
| Введение……………………………………………………………………………………... |  |
|  | Область применения …………………………………………………………………. |  |
|  | Нормативные ссылки ……………………….……………………….……………….. |  |
|  | Термины и определения……………………………………………………….….... |  |
|  | Сущность метода ………….……………………………………..........……………... |  |
|  | Реактивы ………………………………….………………………………………......... |  |
|  | Оборудование …………………………….…………………...........................…….. |  |
|  | Проба…….. ………………………………….…………………...........................…… |  |
|  | Проведение испытания.....……………......…………………….……………………. |  |
|  | Обработка результатов……………………….……………………….……………... |  |
| 1. П
 | Точность…………………….……………………….…………................................... |  |
|  | Протокол испытания…….……………………….……………………....................... |  |
| Приложение А  | (справочное) Построение калибровочных кривых……...……. |  |
| Приложение B  | (справочное) Результаты межлабораторного исследования.. |  |
| Приложение ДА  | (справочное) Сведения о соответствии ссылочного международного стандарта межгосударственному стандарту..................................................................................... |  |
| Библиография……………………………………………………………………………….. |  |

**Введение**

ISO 18363 представляет собой серию [1] международных стандартов, которые могут быть использованы для определения содержания сложных эфиров монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола. Во введении приведено описание методов, указанных в различных частях серии, чтобы аналитик мог решить, какие методы подходят для применения. Подробное описание каждого метода содержится в области применения соответствующего метода.

ISO 18363-1 представляет собой дифференциальный метод, эквивалентный стандарту DGF standard C-VI 18 (10) [2] и идентичный официальному методу Official Method Cd 29c-13 [3]. Метод основан на быстром щелочном каталитическом выделении 3-МХПД и глицидола из производных сложных эфиров. Затем глицидол преобразуется в индуцированный 3-МХПД. Этот метод состоит из двух частей. Первая часть (А) позволяет определить сумму сложных эфиров 3-МХПД и глицидола, вторая часть (В) определяет только сложные эфиры 3-МХПД. Оба определения основаны на выделении целевых аналитов – 3-МХПД и глицидола – из формы сложных эфиров с применением алкоголиза в щелочной среде, проводимого при комнатной температуре. В части А для прекращения реакции и последующего преобразования глицидола в индуцированный 3-МХПД используется подкисленный раствор хлорида натрия. Таким образом, 3-МХПД и глицидол становятся неразличимыми в части А. В части В при добавлении подкисленного раствора соли, не содержащей хлоридов, достигается не только остановка реакции, но и предотвращение преобразования глицидола в индуцированный МХПД. Таким образом, часть В позволяет определить действительное содержание 3-МХПД. Наконец, содержание глицидола в образце пропорционально разности обоих определений (А - В) и может быть вычислено после определения коэффициента преобразования глицидола в 3-МХПД. ISO 18363-1 применим для быстрого определения сложных эфиров 3-МХПД и глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах и жирах. ISO 18363-1 может применяться к животным жирам, а также к отработанным маслам и жирам для жарки, но перед анализом данных образцов необходимо провести валидационное исследование. Любые свободные аналиты, содержащиеся в образце, будут включены в результаты, так как данный стандарт не позволяет различать свободные и связанные соединения. Однако на момент публикации этого стандарта исследования не показали каких-либо доказательств содержания свободного аналита в том же количестве, что и содержание этерифицированного аналита в рафинированных растительных маслах и жирах. В принципе, ISO 18363-1 может быть изменен таким образом, чтобы стало возможным определение 2-МХПД, но перед анализом данного соединения необходимо провести валидационное исследование.

ISO 18363-2 представляет собой официальный метод AOCS Official Method Cd 29b-13 [4]. Метод основан на медленном щелочном высвобождении МХПД и глицидола из производных сложных эфиров. Затем глицидол преобразуется в 3-монобромпропандиол (3-МБПД). ISO 18363-2 подразумевает подготовку двух образцов, которые отличаются использованием внутренних стандартов. Оба образца используются для определения сложных эфиров 2-МХПД и 3-МХПД. В части А определяется предварительный результат для сложного эфира глицидола. Поскольку 3-МХПД, присутствующий в образце, при подготовке образца в незначительной степени преобразуется в индуцированный глицидол, часть В служит для количественного определения доли индуцированного глицидола, который затем вычитают из предварительного количества глицидола, полученного в части А. Используя меченные изотопами свободные МХПД-изомеры в пробе А и меченные изотопами сложные эфиры 2-МХПД и 3-МХПД в части В, можно контролировать эффективность расщепления сложного эфира. Оба определения, А и В, основаны на выделении целевых аналитов 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола из формы сложного эфира посредством медленного щелочного алкоголиза на холоде. При подготовке обоих образцов реакцию останавливают добавлением подкисленного концентрированного раствора бромида натрия для преобразования нестабильного и летучего глицидола в 3-монобромпропандиол (3-МБПД), который демонстрирует сопоставимые с 3-МХПД стабильность и хроматографические характеристики. Кроме того, большой избыток ионов бромида предотвращает нежелательное образование 3-МХПД из глицидола в случае образцов, содержащих определенное природное количество хлорида. ISO 18363-2 применим для определения сложных эфиров 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах, и жирах. ISO 18363-2 может применяться к животным жирам, а также к отработанным маслам и жирам для жарки, но перед анализом этих образцов необходимо провести валидационное исследование. Любые свободные аналиты, содержащиеся в образце, будут включены в результаты, но данный стандарт не позволяет различать свободные и связанные соединения. Однако на момент публикации этого стандарта исследования не показали каких-либо доказательств содержания свободного аналита в том же количестве, что и содержание этерифицированного соединения в рафинированных растительных маслах и жирах.

 ISO 18363-3 представляет собой официальный метод AOCS Official Method Cd 29a-13 [[5]](#Cd29a13). Метод основан на преобразовании сложных глицидиловых эфиров в сложные эфиры 3-МБПД и медленном катализируемом кислой средой высвобождении МХПД и МБПД из производных сложных эфиров. Метод ISO 18363-3 основан на подготовке одного образца, в котором сложные глицидиловые эфиры преобразуются в моноэфиры МБПД, а затем свободные аналиты 2-МХПД, 3-МХПД и 3-МБПД высвобождаются медленным алкоголизом в кислой среде. 3-МБПД представляет собой истинное содержание связанного глицидола. Настоящий документ может применяться для определения сложных эфиров 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах и жирах. Он также применим к животным жирам и использованным жирам и маслам для жарки, но перед анализом этих образцов требуется валидационное исследование. Данный метод подходит для анализа связанных (этерифицированных) аналитов, но при необходимости этот метод может быть также выполнен без первоначального преобразования глицидиловых эфиров. В таком случае результаты будут включать как свободные, так и связанные формы 2-МХПД и 3-МХПД, а количество свободных аналитов может быть рассчитано как разность между двумя результатами, полученными в обоих определениях. Однако на момент публикации этого стандарта исследования не показали каких-либо доказательств того, что содержание свободного аналита столь же высоко, как и содержание этерифицированного аналита в рафинированных растительных маслах и жирах.

 ISO 18363-4 устанавливает ускоренный метод, основанный на быстром щелочном расщеплении сложных эфиров МХПД и глицидиловых эфиров. Высвобождаемый глицидол затем преобразуется в 3-МБПД. pH быстрого щелочного расщепления обычно способствует частичному преобразованию выделившегося МХПД в глицидол в процессе расщепления сложных эфиров, что приводит к завышению содержания глицидилового эфира в пробе. Посредством добавления двух разных меченных изотопами внутренних стандартов сложных эфиров 3-МХПД и глицидола, можно определить количество меченого глицидола, полученного в результате расщепления высвобожденного внутреннего стандарта. Эту информацию можно использовать для корректировки результата определения глицидола, индуцированного глицидиловым эфиром, завышенного за счет глицидола, индуцированного 3-МХПД. Те же два внутренних стандарта используют для количественного определения связанных МХПД и глицидола, что требует приготовления одного образца для количественного определения сложных эфиров 2-МХПД, 3-МХПД и сложных эфиров глицидола. По аналогии с ISO 18363-1, ISO 18363-2 и настоящим документом, выделенные МХПД и 3-МБПД перед анализом методом ГХ-МС/МС дериватизируют с фенилборной кислотой. В отличие от других частей серии ISO 18363, ISO 18363-4 требует оборудования ГХ-МС/МС для однозначного обнаружения каждого из (меченных изотопами) МБПД, необходимых для правильного количественного определения глицидола, индуцированного глицидиловым эфиром. ISO 18363-4 применим для определения сложных эфиров 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах и жирах. Он также применим к животным жирам и использованным жирам и маслам для жарки, но перед анализом этих образцов требуется валидационное исследование. Любые свободные аналиты в образце включаются в результаты, но стандарт не позволяет проводить различие между свободными и связанными аналитами. Однако на момент публикации настоящего документа исследования не выявили никаких доказательств того, что содержание свободных аналитов в рафинированных растительных маслах и жирах столь же высоко, как содержание этерифицированных аналитов.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**Жиры и масла животные и растительные**

**Определение содержания сложных эфиров монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с применением ГХ/МС**

**Часть 3**

**Метод с использованием кислотной переэтерификации и измерение содержания 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола**

Animal and vegetable fats and oils. Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS. Part 3. Method using acid transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol

###  Дата введения –

###

1. **Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает метод одновременного определения сложных эфиров 2-МХПД (связанных 2-МХПД), 3-МХПД (связанных 3-МХПД) и глицидиловых эфиров (связанного глицидола) в одной пробе на основе кислотного каталитического расщепления сложного эфира, и преобразования расщепленных (свободных) соединений фенилборной кислотой (ФБК) с дальнейшим проведением анализа методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии (ГХ/МС).

Настоящий метод применим к твердым и жидким жирам и маслам. Для всех трех определяемых соединений предел количественного определения (LOQ) составляет 0,1 мг/кг, а предел обнаружения (LOD) - 0,03 мг/кг.

1. **Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий стандарт [для датированной ссылки применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированной – последнее издание (включая все изменения к нему)]:

ISO 3696, Water for analytical laboratory use – Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

1. **Термины и определения**

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями.

ISO и IEC поддерживают терминологические базы данных для использования в стандартизации по следующим адресам:

- платформа онлайн-просмотра ISO: доступна по адресу <https://www.iso.org/obp>;

- Электропедия IEC: доступна по адресу http://www.electropedia.org/.

3.1 **связанный 2-МХПД** (bound 2-MCPD):Количество 2-МХПД, высвобожденного из его сложных эфиров (связанных форм) путем переэтерификации, катализируемой кислотой, в соответствии с методом настоящего стандарта.

Примечание – Содержание связанного 2‐МХПД вычисляют и выражают как массовую долю в миллиграммах на килограмм (мг/кг).

3.2 **связанный 3-МХПД** (bound 3-MCPD):Количество 3‐МХПД, высвобожденного из его сложных эфиров (связанных форм) путем переэтерификации, катализируемой кислотой, в соответствии с методом настоящего стандарта.

Примечание – Содержание связанного 3‐МХПД вычисляют и выражают как массовую долю в миллиграммах на килограмм (мг/кг).

3.3 **связанный глицидол** (bound glycidol): Количество глицидола, высвобожденного из его сложных эфиров (связанных форм) путем переэтерификации, катализируемой кислотой, в соответствии с методом настоящего стандарта.

Примечание – Содержание связанного глицидола вычисляют и выражают как массовую долю в миллиграммах на килограмм (мг/кг).

1. **Сущность метода**

Пробу масла/жира растворяют в тетрагидрофуране и в полученный раствор добавляют внутренние стандарты (пентадейтерированный сложный диэфир 3-МХПД и пентадейтерированный сложный глицидиловый эфир). В ходе первого шага подготовки пробы глицидиловые эфиры превращаются в моноэфиры 3-МБПД путем добавления подкисленного раствора бромида натрия. После завершения реакции, органическую фазу, содержащую сложные эфиры 2- и 3-МХПД, а также 3-МБПД, отделяют и выпаривают досуха. На втором шаге, полученный осадок растворяют в тетрогидрофуране, и запускают процесс кислотной переэтерификации добавлением кислого спиртового раствора. После 16 часов выдержки при температуре 40 °С смесь нейтрализуют и удаляют метиловые эфиры жирных кислот, образовавшиеся при переэтерификации. По окончанию, очищенную пробу [содержащую высвобожденные (свободные) определяемые вещества] преобразовывают фенилборной кислотой перед проведением ГХ/МС анализа.

Количественное определение сложных эфиров 2- и 3-МХПД (выраженные как связанные 2- и 3-МХПД) основывается на соотношении сигналов 2-МХПД/3-МХПД-d5 и 3-МХПД/3-МХПД-d5, соответственно. Количественное определение сложных эфиров глицидола (выраженные как связанный глицидол) основывается на соотношении сигналов 3-МБПД/3-МБПД-d5.

Настоящий метод позволяет количественно определять все три соединения в одном анализе.

1. **Реактивы**

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – Следует обратить внимание на правила, регламентирующие порядок обращения с опасными веществами. Необходимо соблюдать технические, организационные и личные меры безопасности.**

При проведении анализа следует использовать реактивы аналитической степени чистоты, если не указано иное. Вода должна соответствовать требованиям класса 3 ISO 3696.

* 1. **Стандартные и контрольные вещества**
1. 1,2-дипальмитоил-3-хлорпропандиол (PP-3-МХПД), чистота ≥ 95 % (например, от поставщика или синтезированный из 3-МХПД и пальмитоил хлорида, как описано в [6]).

 Примечание – 1,2-Дипальмитоил-3-хлорпропандиол можно заменить на 1,2-диолеил-3-хлорпропандиол или другие сложные диэфиры 3-МХПД со сходной длиной цепи (C16-C18 являются предпочтительными из-за их преобладания в маслах/жирах).

1. 1,3-дипальмитоил-2-хлорпропандиол (PP-2-МХПД), чистота ≥ 95 % (например, синтезированный из 2-МХПД и пальмитоил хлорида, как это описано в [6]).

Примечание – Аналогично рекомендациям, приведенным для PP-3-МХПД, 1,3-дипальмитоил-2-хлорпропандиол можно заменить на другие сложные диэфиры 2-МХПД со сходной длиной цепи (C16-C18 являются предпочтительными из-за их преобладания в маслах/жирах).

5.1.3 Пентадейтерированный 1,2-дипальмитоил-3-хлорпропандиол (PP-3-МХПД-d5), чистота ≥ 95 %.

Примечание ─ Аналогично рекомендациям, приведенным для 1,2-дипальмитоил-3-хлорпропандиола и его пентадейтерированного аналога, см. примечание к 5.1.1.

5.1.4 Глицидиловый эфир пальмитиновой кислоты (Gly-P), чистота ≥ 98 %.

Примечание ─ Глицидиловый эфир пальмитиновой кислоты может быть заменен глицидиловым эфиром олеиновой кислоты или другим глицидиловым эфиром со сходной длиной цепи (С16-18 являются предпочтительными из-за их преобладания в маслах/жирах).

5.1.5 Пентадейтерированный глицидиловый эфир пальмитиновой кислоты (Gly-P-d5), чистота ≥ 98 %.

Примечание ─ Рекомендации, аналогичные приведенным для глицидилового эфира пальмитиновой кислоты могут быть применены для его пентадейтерированного аналога, см. примечание к 5.1.4.

* 1. **Стандартные растворы**
		1. **Общие положения**

Все стандартные растворы могут быть приготовлены с толуолом (5.3.5) или тетрагидрофураном (5.3.1). Толуол предпочтителен в качестве растворителя для растворов сложных эфиров глицидола.

* + 1. **Основные растворы (1 мг/см3)**

a) Взвесить 10 мг PP-3-МХПД (5.1.1) в мерной колбе объемом 10 см3. Заполнить растворителем до метки, убедившись, что стандарт полностью растворился.

b) Взвесить 10 мг PP-2-МХПД (5.1.2) в мерной колбе объемом 10 см3. Заполнить растворителем до метки, убедившись, что стандарт полностью растворился.

c) Взвесить 10 мг PP-3-МХПД-d5 (5.1.3) в мерной колбе объемом 10 см3. Заполнить растворителем до метки, убедившись, что стандарт полностью растворился.

d) Взвесить 10 мг Gly-P (5.1.4) в мерной колбе объемом 10 см3. Заполнить растворителем до метки, убедившись, что стандарт полностью растворился.

e) Взвесить 10 мг Gly-P-d5 (5.1.5) в мерной колбе объемом 10 см3. Заполнить растворителем до метки, убедившись, что стандарт полностью растворился.

Примечание ─ Основные растворы стабильны в течение трех месяцев при температуре хранения минус 18 °С.

* + 1. **Рабоч****ие растворы**

a) Калибровочный раствор I (PP-3-МХПД, 55 мкг/см3). Пипеткой внести 550 мкл основного раствора [5.2.2 a)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

b) Калибровочный раствор II (PP-3-МХПД, 5,5 мкг/см3). Пипеткой внести 1 см3 калибровочного раствора I [5.2.3 a)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

c) Калибровочный раствор III (PP-2-МХПД, 55 мкг/см3). Пипеткой внести 550 мкл основного раствора [5.2.2 b)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

d) Калибровочный раствор IV (PP-2-МХПД, 5,5 мкг/см3). Пипеткой внести 1 см3 калибровочного раствора III [5.2.3 с)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

e) Калибровочный раствор V (Gly-P, 100 мкг/см3). Пипеткой внести 1 см3 основного раствора [5.2.2 d)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

f) Калибровочный раствор VI (Gly-P, 10 мкг/см3). Пипеткой внести 1 см3 калибровочного раствора V [5.2.3 e)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

g) Внутренний стандарт I (PP-3-МХПД-d5, 40 мкг/см3). Пипеткой внести 400 мкл основного раствора [5.2.2 с)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

h) Внутренний стандарт II (Gly-P-d5, 50 мкг/см3). Пипеткой внести 500 мкл основного раствора [5.2.2 e)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем.

В качестве альтернативного способа приготовления стандартных растворов каждого определяемого соединения [5.2.3 a), c), и e)] может быть применено объединение этих трех растворов с более высокой концентрацией в один стандартный раствор («Калибровочная смесь I»). Для приготовления смешанного раствора внести пипеткой 550 мкл основного раствора PP-3-МХПД [5.2.2 a)], 550 мкл основного раствора PP-2-МХПД [5.2.2 b)] и 1 см3 основного раствора Gly-P [5.2.2 d)] в мерную колбу объемом 10 см3 и довести до метки растворителем. Кроме того, растворы 5.2.3 b), d) и f) могут быть объединены в один стандартный раствор при низкой концентрации всех трех определяемых веществ («Калибровочная смесь II»). Для приготовления смешанного раствора внести 1 см3 «Калибровочная смесь I» в мерную колбу объемом 10 см3 и заполнить ее растворителем до метки.

Растворы внутреннего стандарта [5.2.3 g) и h)] также можно смешать в один раствор («смешанный внутренний стандарт»). Для приготовления смешанного раствора, пипеткой внести 400 мкл PP-3-МХПД-d5 [5.2.2 c)] и 500 мкл Gly-P-d5 [5.2.2 e)] в мерную колбу объемом 10 см3 и заполнить ее растворителем до метки.

* 1. **Другие реактивы**
1. Тетрагидрофуран, безводный.
2. Метанол, аналитической степени чистоты.
3. н-гептан, аналитической степени чистоты.
4. Ацетон, аналитической степени чистоты.
5. Толуол, аналитической степени чистоты.
6. Вода ультрачистая (например, полученная с помощью системы очистки).
7. Серная кислота, чистота ≥ 95 %.
8. Гидрокарбонат натрия, чистота ≥ 99 %.
9. Сульфат натрия, чистота ≥ 99 %.
10. Фенилборная кислота, чистота ≥ 97 %.
11. Бромид натрия, чистота ≥ 99,5 %.
	1. **Растворы реактивов**
		1. Кислый водный раствор бромида натрия [бромид натрия 3 мг/см3, серная кислота 5 % (объемная доля)].

Приготовить концентрированный водный раствор бромида натрия, растворив 1 г бромида натрия (5.3.11) в 10 см3 ультрачистой воды (5.3.6). Перенести 180 мкл концентрированного раствора в пустую коническую колбу. Добавить 0,3 см3 серной кислоты (5.3.7) и 5,5 см3 ультрачистой воды (5.3.6) и хорошо встряхнуть.

Рекомендуется ежедневно готовить свежий раствор.

5.4.2 Раствор гидрокарбоната натрия (массовая концентрация 0,6 %). Взвесить 0,6 г гидрокарбоната натрия (5.3.8) в мерную колбу объемом 100 см3 и довести до метки ультрачистой водой (5.3.6). Используют ультразвуковую ванну (6.3) для полного растворения реагента.

Примечание ─ Раствор также можно приготовить путем разбавления насыщенного раствора гидрокарбоната натрия (5.4.4).

5.4.3 Раствор серной кислоты в метаноле (1,8 %, объемная доля). Внести пипеткой 1,8 см3 серной кислоты (5.3.7) в мерную колбу объемом 100 см3 и довести до метки метанолом (5.3.2).

Рекомендуется ежедневно готовить свежий раствор.

5.4.4 Раствор гидрокарбоната натрия (насыщенный). Взвесить 9,6 г гидрокарбоната натрия (5.3.8) в мерной колбе объемом 100 см3 и довести до метки ультрачистой водой (5.3.6). Использовать ультразвуковую ванну (6.3) для полного растворения реагента.

Примечание ─ Для повышения надежности метода, насыщенный раствор гидрокарбоната натрия можно заменить раствором с точной концентрацией (массовая концентрация 9 %).

5.4.5 Раствор сульфата натрия (массовая концентрация 20 %). Взвесить 20 г сульфата натрия (5.3.9) в мерную колбу объемом 100 см3 и довести до метки ультрачистой водой (5.3.6). Использовать ультразвуковую ванну (6.3) для полного растворения реагента.

5.4.6 Раствор фенилборной кислоты (насыщенный). Взвесить 3 г фенилборной кислоты (5.3.10), добавить 12 см3 смеси ацетона (5.3.4) с ультрачистой водой (5.3.6) (объемная доля 19/1) и хорошо встряхнуть.

Примечание ─ Фенилборная кислота не растворяется полностью в смеси растворителей. На этапе получения производных следует использовать только надосадочную жидкость (8.1.6).

1. **Оборудование**
2. Вихревая мешалка.
3. Сушильный шкаф, поддерживающий температуру (45 ± 5) °C.
4. Ультразвуковая ванна.
5. Лабораторный испаритель (с азотом).
6. Центрифуга.
7. Оборудование ГХ/МС, состоящее из:
8. капиллярного газового хроматографа с квадрупольным масс-селективным детектором и блоком обработки данных, и
9. капиллярной колонки с неподвижной фазой поли(диметилсилоксана) (например, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки 1,0 мкм).

**7 Проба**

**7.1 Отбор проб**

Отбор проб не является частью данного метода. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в ISO 5555 [7].

**7.2 Подготовка пробы для испытания**

Жидкие образцы используют без дополнительной обработки. Твердые или мутные жиры осторожно расплавляют при температуре приблизительно 80 °C в сушильном шкафу или на водяной бане. Для жиров с высокой температурой плавления температуру увеличивают постепенно, с шагом 10 °C, пока не начнется процесс плавления.

**8 Проведение испытания**

**8.1 Подготовка пробы для испытания**

8.1.1 Взять навеску масла/жира массой от 100 до 110 мг (с точностью 0,01 мг) в пробирку с винтовой крышкой. Добавить 50 мкл рабочего раствора внутреннего стандарта I [5.2.3 g)] и II [5.2.3 h)], и 2 см3 тетрагидрофурана (5.3.1). Перемешать смесь в течение 15 с (или до полного растворения) на вихревой мешалке (6.1).

Наличие воды может мешать преобразованию глицидиловых эфиров в моноэфиры МБПД (8.1.2), поэтому рекомендуется использовать безводный тетрагидрофуран (5.3.1) [8].

Если используется смешанный раствор внутреннего стандарта (см. примечание к 5.2.3), то к пробе необходимо добавить 50 мкл этого раствора.

Если предполагается наличие большого количества хлоридных солей в образце, необходимо проведение дополнительного этапа экстракции водой, описанной в [9]. Особое внимание необходимо уделить процессу полного отделения водного слоя после экстракции.

8.1.2 Добавить к пробе 30 мкл кислого водного раствора бромида натрия (5.4.1), тщательно перемешать на вихревой мешалке (6.1) и выдержать смесь при 50 °С в течение 15 мин. Остановить реакцию добавлением 3 см3 0,6 % водного раствора гидрокарбоната натрия (5.4.2). Для отделения масла/жира от водной фазы, добавить 2 см3 н-гептана (5.3.3) и тщательно перемешать на вихревой мешалке (6.1) в течение 15 с. После разделения двух фаз, перенести верхний слой в пустую стеклянную пробирку и выпарить досуха в потоке азота (максимум от 15 до 20 мин при температуре от 35 °С до 40 °С). Растворяют остаток в 1 см3 тетрагидрофурана (5.3.1).

Время и температура реакции должны тщательно контролироваться, чтобы избежать неоптимального преобразования глицидиловых эфиров или образования новых сложных эфиров 3-МБПД [8].

Четкое разделение органической фазы и водной фазы может быть затруднено. Поэтому часто требуется выполнение центрифугирования пробы (примерно от 1 до 2 мин при 250 g).

Процесс выпаривания органической фазы в потоке азота должен тщательно контролироваться и останавливаться сразу после испарения растворителя. Небольшое количество оставшегося в пробе растворителя (< 50 мкл) не влияет на качество результатов, и это предпочтительнее, чем длительное воздействие потока азота на пробу.

8.1.3 Добавить к пробе 1,8 см3 раствора серной кислоты в метаноле (5.4.3) и перемешать на вихревой мешалке (6.1) в течение 10 с. Плотно закрыть стеклянную пробирку крышкой и выдержать смесь при 40 °С в течение 16 ч.

8.1.4 После выдерживания остановить реакцию добавлением к пробе 0,5 см3 насыщенного раствора гидрокарбоната натрия (5.4.4). Перемешать смесь на вихревой мешалке (6.1) в течение 10 с. Выпарить органические растворители из смеси в потоке азота.

Примечание ─ Удаление органических растворителей повышает чувствительность метода. Выпаривание можно остановить, когда визуально объем в пробирке составит около 1 см3.

8.1.5 Добавить 2 см3 раствора сульфата натрия (5.4.5) и 2 см3 н-гептана (5.3.3). Перемешать смесь на вихревой мешалке (6.1) в течение 10 с. Две фазы самостоятельно разделяются в течение нескольких секунд. Удалить верхнюю фазу (она содержит метиловые эфиры жирных кислот, растворенные в н-гептане) и повторить экстракцию с н-гептаном.

В ходе второй экстракции важно полностью удалить верхнюю органическую фазу.

8.1.6 Добавить 250 мкл раствора фенилборной кислоты (5.4.6), перемешать в течение 10 с на вихревой мешалке (6.1) и выдержать смесь в течение 5 мин в ультразвуковой ванне (6.3) при комнатной температуре.

8.1.7 Проэкстрагировать фенилборные производные 2- и 3-МХПД, а также 3-МБПД, добавив 1 см3 н-гептана (5.3.3), перемешать смесь в течение 10 с на вихревой мешалке (6.1), перенести верхнюю фазу в пустую пробирку. Повторить экстракцию с помощью 1 см3 н-гептана и объединить оба экстракта. Выпарить экстракты досуха в потоке азота. Растворить остаток в 400 мкл н-гептана, перемешав на вихревой мешалке в течение 10 с (6.1), перенести полученную смесь в пустую виалу для хроматографии (обычно используют стеклянная вставка объемом около 250 мкл).

Для облегчения удаления н-гептана выпаривание экстрактов в потоке азота проводят в температурном диапазоне от 35 °С до 40 °С, процесс должен быть остановлен сразу после испарения растворителя, чтобы избежать потерь, связанных с высокой летучестью фенилборных производных.

Если выпаривание экстрактов выполняется при повышенной температуре (максимум 40 °С), то перед растворением осадков пробирки необходимо охладить до комнатной температуры.

Примечание ─ В процессе выпаривания экстрактов, избыток фенилборной кислоты, непрореагировавшей с 2- и 3-МХПД, а также 3-МБПД кристаллизуется на стенках пробирки в форме белого осадка. Добавление 400 мкл н-гептана (заключительный этап подготовки пробы) не приводит к его полному растворению, что, в противном случае, мешало бы анализу.

**8.2 Построение калибровочной кривой**

8.2.1 Приготовить девять калибровочных образцов путем ввода 50 мкл как рабочих растворов внутренних стандартов [5.2.3 g) и h)], так и калибровочных растворов [5.2.3 a) ─ f)] в количествах, указанных в таблице А.1. Добавить 2 см3 тетрагидрофурана (5.3.1) и энергично перемешать на вихревой мешалке (6.1) в течение 10 с.

Примечание ─ Добавление от 100 до 110 мг чистого масла (не содержащего сложных эфиров 2-МХПД/3-МХПД и глицидиловых эфиров) в калибровочные образцы может повысить точность метода, поскольку жировая основа предотвращает испарение определяемых веществ.

8.2.2 Подготовить калибровочные образцы согласно процедуре подготовки испытуемых проб (8.1).

* 1. **Условия проведения анализа методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии**

8.3.1 Объем вводимой пробы: 1,0 мкл.

8.3.2 Режим ввода пробы: импульсный без разделения потока.

8.3.3 Температура инжектора: 250 °C.

8.3.4 Газ носитель: гелий, скорость потока: 0,8 см3/мин.

8.3.5 Программа температуры термостата газового хроматографа (ГХ): 80 °C (изотермический режим в течение 1 мин), от 80 °C до 170 °C со скоростью 10 °C/мин, от 170 °C до 200 °C со скоростью 3 °C/мин, от 200 °C до 300 °C со скоростью 15 °C/мин, 300 °C (изотермический режим в течение 15 мин).

8.3.6 Масс-спектрометрический детектор: электронная ионизация (ЭИ), температура переходной линии: 300 °C, температура ионного источника: 230 °C, температура квадруполя: 150 °C, SIM-режим (режим селективно выбранных масс ионов) – время экспозиции: от 5 до 20 мин.

П р и м е ч а н и е ─ Молекулярные ионы (m/z 196 и 201 для 3-МХПД и 3-МХПД-d5 соответственно; m/z 240 и 245 для 3-МБПД и 3-МБПД-d5 соответственно) также могут использоваться для количественного определения, однако они не являются предпочтительными, так как низкая интенсивность их сигнала может повлиять на чувствительность определения.

8.3.7 Параметры SIM-режима:

a) фенилборная производная 3-МХПД (m/z) 147 (ион-квантификатор), 196, 198 (ионы-квалификаторы);

b) фенилборная производная 2-МХПД (m/z) 196 (ион-квантификатор), 198 (ион-квалификатор);

c) фенилборная производная 3-МХПД-d5 (m/z) 150 (ион-квантификатор для 3-МХПД), 201 (ион-квантификатор для 2-МХПД), 203 (ион-квалификатор);

d) фенилборные производные 3-МБПД (m/z) 147 (ион-квантификатор), 240 (ион-квалификатор);

e) фенилборная производная 3-МБПД-d5 (m/z) 150 (ион-квантификатор), 245 (ион-квалификатор).

1. **Обработка результатов**

**9.1**  **Количественное определение сложных эфиров 3-МХПД**

9.1.1 Подготавливают калибровочную кривую, откладывая отношение количества стандарта (выраженного как эквивалент свободного 3-МХПД) к количеству внутреннего стандарта (выраженного как эквивалент свободного 3-МХПД-d5) по оси Х и отношение площадей соответствующих пиков по оси Y (рисунок А.1). Ионы с m/z 147 (3-МХПД) и 150 (3-МХПД-d5) используют для количественного определения. Линейную регрессию рассчитывают по формуле

 $у=ax+b$, (1)

где *a* ─ тангенс угла наклона;

*b* ─точка пересечения с осью Y.

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |

Для обеспечения высокой точности определения в образцах с очень низким содержанием сложных эфиров 3-МХПД необходимо подтвердить линейность (R2 > 0,99) и, что точка пересечения с осью Y предпочтительно < |0,02|.

9.1.2 Содержание сложных эфиров 3-МХПД в испытуемой пробе, мг/кг, рассчитывают по формуле

 $c=\frac{\left(\frac{A\_{a}}{A\_{b}}-b\right)m\_{is}}{a·W},$(2)

где *с* ─ содержание сложных эфиров 3-МХПД в испытуемой пробе (выраженное как связанный 3-МХПД), мг/кг масла;

 *A*a ─ площадь пика, соответствующая производной 3-МХПД (m/z 147);

*m*is ─ абсолютное значение количества внутреннего стандарта (скорректированное с учетом его чистоты), добавленного в испытуемую пробу, мкг;

 *A*b ─ площадь пика, соответствующая производной 3-МХПД-d5 (m/z 150);

*a* ─ тангенс угла наклона калибровочной кривой;

*W* ─ масса пробы, г;

*b* ─точка пересечения калибровочной кривой с осью Y.

* 1. **Количественное определение сложных эфиров 2-МХПД**

9.2.1 Подготавливают калибровочную кривую, откладывая отношение количества стандарта (выраженного как эквивалент свободного 2-МХПД) к количеству внутреннего стандарта (выраженного как эквивалент свободного 3-МХПД-d5) по оси X и отношение площадей соответствующих пиков по оси Y. Ионы с m/z 196 (2-МХПД) и 201 (3-МХПД-d5) используют для количественного определения. Линейную регрессию рассчитывают по формуле

 $у=ax+b$, (3)

где *a* ─ тангенс угла наклона;

*b* ─точка пересечения с осью Y.

Для обеспечения высокой точности определения в образцах с очень низким содержанием сложных эфиров 2-МХПД, необходимо подтвердить линейность (R2 > 0,99) и, что точка пересечения с осью Y предпочтительно < |0,05|.

* + 1. Содержание сложных эфиров 2-МХПД в испытуемой пробе, мг/кг, рассчитывают по [формуле](#Формула4)

 $c=\frac{\left(\frac{A\_{a}}{A\_{b}}-b\right)m\_{is}}{a·W},$(4)

где *с* ─ содержание сложных эфиров 2-МХПД в испытуемой пробе (выраженное как связанный 2-МХПД), мг/кг масла;

*A*a ─ площадь пика, соответствующая производной 2-МХПД (m/z 196);

*m*is ─ абсолютное значение количества внутреннего стандарта (скорректированное с учетом его чистоты), добавленного в испытуемую пробу, мкг;

*A*b ─ площадь пика, соответствующая производной 3-МХПД-d5 (m/z 201);

*a* ─ тангенс угла наклона калибровочной кривой;

*W* ─ масса пробы, г;

*b* ─точка пересечения калибровочной кривой с осью Y.

* 1. **Количественное определение глицидиловых эфиров**
1. Подготавливают калибровочную кривую, откладывая отношение количества стандарта (выраженного как эквивалент глицидола) к количеству внутреннего стандарта (выраженного как эквивалент дейтерированного глицидола) по оси Х и отношение площадей соответствующих пиков по оси Y (рисунок А.2). Ионы с m/z 147 (3-МХПД) и 150 (3-МХПД-d5) используют для количественного определения. Линейную регрессию рассчитывают по формуле

 $у=ax+b$, (5)

где *a* ─ тангенс угла наклона;

*b* ─ точка пересечения с осью Y.

Для обеспечения высокой точности определения в образцах с очень низким содержанием сложных эфиров глицидола, необходимо подтвердить линейность (R2 > 0,99) и, что точка пересечения с осью Y предпочтительно < |0,02|.

1. Содержание глицидиловых эфиров в испытуемой пробе, мг/кг, рассчитывают по формуле

 $c=\frac{\left(\frac{A\_{a}}{A\_{b}}-b\right)m\_{is}}{a·W},$(6)

где *с* ─ содержание глицидиловых эфиров в испытуемой пробе (выраженное как связанный глицидол), мг/кг масла;

*A*a ─ площадь пика, соответствующая производной 3-МБПД (m/z 147);

*m*is ─ абсолютное значение количества внутреннего стандарта (скорректированное с учетом его чистоты), добавленного в испытуемую пробу, мкг;

*A*b ─ площадь пика, соответствующая производной 3-МБПД-d5 (m/z 150);

*a* ─ тангенс угла наклона калибровочной кривой;

*W* ─ масса пробы, г;

*b* ─точка пересечения калибровочной кривой с осью Y.

Примечание ─ Типичные хроматограммы реального образца приведены на рисунках A.3 и [A.4](#РисА4).

1. **Точность**
2. **Общие положения**

Оценка метода была осуществлена при совместном международном исследовании, проведенном AOCS. Благодаря удовлетворительным результатам, предоставленным участвующими лабораториями, метод был признан в качестве официального метода AOCS Cd 29a-13. Подробная информация о межлабораторном испытании точности метода приведена в приложении В. Результаты, полученные в ходе межлабораторного испытания, не могут быть применимы к другим образцам, отличным от приведенных в приложении В.

1. **Повторяемость**

Расхождение между результатами двух однократных независимых испытаний, полученных одним и тем же методом, на идентичном анализируемом материале, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования, в течение одного дня не должна превышать 3 % *s*r [8].

1. **Воспроизводимость в интервале нескольких дней**

Расхождение между результатами двух однократных независимых испытаний, полученных одним и тем же методом, на идентичном анализируемом материале, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования, в течение короткого периода времени (например, 5 дней) не должна превышать 5 % *s*R [8].

1. **Протокол испытания**

Протокол испытания должен содержать как минимум следующее:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;

- использованный метод испытания и элемент, подлежащий определению, со ссылкой на настоящий стандарт;

- результаты испытаний, полученные в соответствии с [разделом 9](#Параграф9), и единицы измерения, в которых они выражены;

- дату отбора пробы и процедуру отбора пробы (если она известна);

- дату завершения испытания;

- все детали испытания, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые в качестве необязательных, а также сведения о любых инцидентах, произошедших при выполнении метода, которые могли повлиять на результат(-ы) испытания.

**Приложение А**

**(справочное)**

**Построение калибровочных кривых**



Рисунок А.1 – Калибровочная кривая РР-3-МХПД



Рисунок А.2 – Калибровочная кривая Gly-P

 

Обозначение

Х время

Y сигнал детектора

Рисунок A.3 – SIM-хроматограмма образца полностью рафинированного пальмового масла (выделенные ионы m/z 147 и 150)

 

Обозначение

Х время

Y сигнал детектора

Рисунок A.4 – SIM хроматограмма образца полностью рафинированного пальмового масла (выделенные ионы m/z 196 и 201)

Таблица A.1 – Схема построения калибровочной кривой для PP-3-MХПД, PP-2-MХПД и Gly-P

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Калибровочный раствор** | **2-МХПДа** | **3-МХПДа** | **Gly**a | **Раствор** **внутреннего стандарта** | **3-МХПД-d5**a | **Gly-d5**a |
|  | a) - f) | мкг | мкг | мкг | g) - h) | мкг | мкг |
| Калибровочныйраствор 0 | – | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 50 мкл (g)+50 мкл (h) или 50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 1 | 25 мкл (b) +25 мкл (d) +25 мкл (f) или 25 мкл калибровочной смеси II | 0,03 | 0,03 | 0,06 | 50 мкл (g)+50 мкл (h)или50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 2 | 50 мкл (b) +50 мкл (d) +50 мкл (f) или 50 мкл калибровочной смеси II | 0,05 | 0,05 | 0,12 | 50 мкл (g) +50 мкл (h) или 50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 3 | 100 мкл (b) +100 мкл (d) +100 мкл (f) или 100 мкл калибровочной смеси II | 0,10 | 0,10 | 0,24 | 50 мкл (g) +50 мкл (h) или 50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 4 | 20 мкл (a) +20 мкл (c) +20 мкл (e) или 20 мкл калибровочной смеси I | 0,21 | 0,21 | 0,47 | 50 мкл (g) +50 мкл (h) или 50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 5 | 30 мкл (a) +30 мкл (c) +30 мкл (e) или 30 мкл калибровочной смеси I | 0,31 | 0,31 | 0,71 | 50 мкл (g) +50 мкл (h) или 50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 6 | 50 мкл (a) +50 мкл (c) +50 мкл (e) или 50 мкл калибровочной смеси I | 0,52 | 0,52 | 1,19 | 50 мкл (g)+50 мкл (h) или 50 мкл смеси раствора внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 7 | 70 мкл (a) +70 мкл (c) +70 мкл (e) или 70 мкл калибровочной смеси I | 0,72 | 0,72 | 1,66 | 50 мкл (g) +50 мкл (h) или 50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| Калибровочныйраствор 8 | 90 мкл (a) +90 мкл (c) +90 мкл (e) или 90 мкл калибровочной смеси I | 0,93 | 0,93 | 2,13 | 50 мкл (g)+50 мкл (h) или 50 мкл смешанного внутреннего стандарта | 0,39 | 0,62 |
| aДанные значения должны быть скорректированы по чистоте использованного стандарта. |

**При****ложение B
(справочное)

Результаты межлабораторного исследования**

 Точность метода была установлена международным межлабораторным исследованием организованным Американским обществом специалистов в области химии жиров (American Oil Chemists’ Society) в 2014. Статистическая оценка метода была выполнена в соответствии со стандартами ISO 5725-1 [[10]](#ISO57251) и ISO 5725-2 [[11]](#ISO57252).

Идентификация образца:

* образец 1: полностью рафинированное рапсовое масло с добавлением эфиров 3-МХПД и глицидиловых эфиров;
* образец 2: полностью рафинированное рапсовое масло с добавлением глицидиловых эфиров;
* образец 3: полностью рафинированное рапсовое масло с добавлением эфиров 3-МХПД;
* образец 4: полностью рафинированное рапсовое масло с добавлением эфиров 3-МХПД и глицидиловых эфиров;
* образец 5: полностью рафинированное рапсовое масло;
* образец 6: полностью рафинированное пальмовое масло;
* образец 7: полностью рафинированное пальмовое масло с добавлением эфиров 3-МХПД и глицидиловых эфиров.

В [таблицах B.1](#ТаблВ1) – [B.3](#ТаблВ3) представлены статистические результаты.

Таблица B.1 – Статистические результаты для 3-МХПД

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Образец 1 | Образец 2 | Образец 3 | Образец 4 | Образец 5 | Образец 6 | Образец 7 |
| Количество лабораторий | 10 | 10 | 12 | 11 | 9 | 11 | 12 |
| Повторы | 20 | 20 | 24 | 22 | 18 | 22 | 24 |
| Среднее значение | 47,28 | 0,49 | 5,82 | 18,92 | 0,50 | 1,95 | 3,41 |
| Повторяемость |  |  |  |  |  |  |  |
| *СV,r* | 0,46 | 0,03 | 0,35 | 0,35 | 0,05 | 0,09 | 0,08 |
| *sr%* | 0,97 | 5,45 | 5,99 | 1,85 | 9,76 | 4,65 | 2,43 |
| r | 1,28 | 0,08 | 0,98 | 0,98 | 0,14 | 0,25 | 0,23 |
| Воспроизводимость |  |  |  |  |  |  |  |
| *СV,R* | 3,97 | 0,08 | 0,79 | 1,87 | 0,05 | 0,13 | 0,41 |
| *SR%* | 8,40 | 16,12 | 13,54 | 9,88 | 9,76 | 6,42 | 11,96 |
| R | 11,12 | 0,22 | 2,20 | 5,23 | 0,14 | 0,35 | 1,14 |

Таблица В.2 – Статистические результаты для 2-МХПД

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Образец 1 | Образец 2 | Образец 3 | Образец 4 | Образец 5 | Образец 6 | Образец7 |
| Количество лабораторий | 10 | 11 | 11 | 11 | 10 | 11 | 12 |
| Повторы | 20 | 22 | 22 | 22 | 20 | 22 | 24 |
| Среднее значение | 0,32 | 0,21 | 0,22 | 0,26 | 0,22 | 0,93 | 1,61 |
| Повторяемость |  |  |  |  |  |  |  |
| *СV,r* | 0,03 | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 0,03 | 0,06 | 0,09 |
| *sr%* | 9,62 | 14,24 | 16,20 | 13,49 | 12,57 | 6,31 | 5,58 |
| r | 0,09 | 0,08 | 0,10 | 0,10 | 0,08 | 0,16 | 0,25 |
| Воспроизводимость |  |  |  |  |  |  |  |
| *СV,R* | 0,09 | 0,05 | 0,06 | 0,07 | 0,03 | 0,13 | 0,22 |
| *SR%* | 27,79 | 25,28 | 26,56 | 25,62 | 15,20 | 13,56 | 13,76 |
| R | 0,25 | 0,15 | 0,16 | 0,19 | 0,09 | 0,35 | 0,62 |

Таблица В.3 – Статистические результаты для глицидола

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Образец 1 | Образец 2 | Образец 3 | Образец 4 | Образец 5 | Образец 6 | Образец 7 |
| Количество лабораторий | 11 | 10 | 8 | 12 | 8 | 12 | 12 |
| Повторы | 22 | 20 | 16 | 24 | 15 | 24 | 24 |
| Среднее | 8,76 | 1,46 | 0,28 | 4,69 | 0,32 | 10,91 | 4,92 |
| Повторяемость |  |  |  |  |  |  |  |
| *СV,r* | 0,31 | 0,03 | 0,03 | 0,16 | 0,04 | 0,42 | 0,13 |
| *sr%* | 3,51 | 2,19 | 12,28 | 3,46 | 12.13 | 3,87 | 2,70 |
| r | 0,86 | 0,09 | 0,10 | 0,45 | 0,11 | 1,18 | 0,37 |
| Воспроизводимость |  |  |  |  |  |  |  |
| *СV,R* | 0,82 | 0,05 | 0,12 | 0,41 | 0,13 | 1,37 | 0,49 |
| *SR%* | 9,33 | 3,15 | 44,38 | 8,84 | 40,12 | 12,56 | 9,93 |
| R | 2,29 | 0,13 | 0,35 | 1,16 | 0,36 | 3,84 | 1,37 |

**Приложение ДА**

**(справочное)**

**Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам**

Т а б л и ц а  ДА.1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Обозначение ссылочногомеждународного стандарта | Степеньсоответствия | Обозначение и наименование соответствующею межгосударственного стандарта |
| ISO 3696 | IDT | ГОСТ ISO 3696—2013 «Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля» |
| Примечание – В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта:IDT – идентичный стандарт. |

**Библиография**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| [1] | ISO 18363 (все части) | Animal and vegetable fats and oil – Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS [Жиры и масла животные и растительные. Определение содержания сложных эфиров жирных кислот хлорпропандиолов (MХПД) и глицидола с применением газовой хроматографии/масс-спектрометрии] |
| [2] | Deutsche Gesellschaft fur Fettwissenschaft (DGF). DGF Standard Method C-VI 18 (10) Fatty-acid bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxipropane-1-ol (glycidol). Determination in oils and fats by GC-MS (Differential measurement). Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen, 2011b[Сложные эфиры жирных кислот 3-хлоропропан-1,2-диол (3-МХПД) и 2,3-эпоксипропан-1-ол (глицидол). Определение в маслах и жирах методом ГХ/МС (метод разности)].  |
| [3] | AOCS Official Method Cd 29c-13, 2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and Glycidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by GC/MS (Difference Method) [Сложные эфиры жирных кислот 2- и 3- MХПД и сложные эфиры жирных кислот глицидола в пищевых маслах и жирах методом ГХ/МС (метод разности)]  |
| [4] | AOCS Official Method Cd 29b-13, 2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and Glycidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by Alkaline Transesterification and GC/MS (Сложные эфиры жирных кислот 2- и 3-MХПД и сложные эфиры жирных кислот глицидола в пищевых маслах и жирах методом щелочной переэтерификации и ГХ/МС) |
| [5] | AOCS Official Method Cd 29a-13, 2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and Glycidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by Acid Transesterification and GC/MS (Сложные эфиры жирных кислот 2- и 3-MХПД и сложные эфиры жирных кислот глицидола в пищевых маслах и жирах методом кислотной переэтерификации и ГХ/МС) |
| [6] | Kraft R., Brachwitz H., Etzold G., Langen P., Zöpel H.-J. Massenspektrometrische Strukturuntersuchung Stellungsisomerer Fettsäureester der Halogenpropandiole (Desoxyhalogen-glyceride). J. Prakt. Chem. 1979, 321 pp. 756–768 [Масс-спектрометрический структурный анализ позиционных изомерных жирнокислотных эфиров галогенпропандиолов (дезоксигалогенглицеридов)].  |
| [7] | ISO 5555 | Animal and vegetable fats and oils — Sampling (Жиры и масла животные и растительные. Отбор проб) |
| [8] | Ermacora A., Hrnčiřík K. A Novel Method for Simultaneous Monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and Glycidyl Esters in Oils and Fats. J. Am. Oil Chem. Soc. 2013, 90 pp. 1–8(Метод одновременного мониторинга 2-МХПД, 3-МХПД и глицидиловых эфиров в маслах и жирах)  |
| [9] | Ermacora A., Hrnčiřík K. Evaluation of an Improved Indirect Method for the Analysis of 3-MCPD Esters Based on Acid Transesterification. J. Am. Oil Chem. Soc. 2012, 89 pp. 211–217(Оценка усовершенствованного косвенного метода анализа эфиров 3-МХПД на основе кислотной переэтерификации) |
| [10] | ISO 5725-1 | Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions [Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1: Основные принципы и определения] |
| [11] | ISO 5725-2 | 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 [Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений - Часть 2: Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения] |

УДК 543.062:006.354 МКС 67.200.10 IDT

Ключевые слова: животные жиры, растительные масла, монохлорпропандиол, сложные эфиры жирных кислот, глицидол, газовая хроматография, масс-спектрометрия

|  |
| --- |
| Руководитель организации разработчика |
| Директор ВНИИЖиров |   | А.Н. Лисицын |
| Разработчик |
| Зав. научно-исследовательским отделом стандартизации |  | Ф.П. Носовицкая |