|  |
| --- |
| **МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ** **(МГС)****INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION** **(ISC)** |
|  | **МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ****СТАНДАРТ** |  **ГОСТ** **ISO 18363-4–** **202** |

**ЖИРЫ И МАСЛА ЖИВОТНЫЕ И РАСТИТЕЛЬНЫЕ Определение содержания сложных эфиров монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола с применением ГХ/МС**

**Ч а с т ь  4**

 **Метод с использованием быстрой щелочной переэтерификации и измерение содержания 2-МХПД,**

**3-МХПД и глицидола с применением ГХ/МС/МС**

 **(ISO 18363-4:2021, IDT)**

**Москва**

**Российский институт стандартизации**

**2023**

**Предисловие**

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 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт жиров» (ВНИИЖиров)

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

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от № )

За принятие проголосовали:

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

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от № межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 18363-4–202 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*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»*

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2023

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

**Содержание**

[Предисловие II](#_Toc97732560)

[Введение V](#_Toc97732561)

[1 Область применения Ошибка! Закладка не определена.](#_Toc97732562)

[2 Нормативные ссылки 2](#_Toc97732563)

[3 Термины и определения 2](#_Toc97732564)

[4 Сущность метода 3](#_Toc97732565)

[5 Реактивы 3](#_Toc97732566)

[6 Оборудование 7](#_Toc97732575)

[7 Проба и хранение 8](#_Toc97732576)

[8 Проведение испытания 9](#_Toc97732580)

[9 Обработка результатов 12](#_Toc97732584)

[10 Примечания Ошибка! Закладка не определена.](#_Toc97732590)

[11 Точность 20](#_Toc97732591)

[Приложение А (обязательное) Вспомогательные таблицы 2](#_Toc97732595)2

[Приложение Б (справочное) Статистические результаты совместного исследования, проведенного ИСО 24](#_Toc97732596)

[Приложение В (справочное) Хроматограммы 27](#_Toc97732597)

Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочного

международного стандарта межгосударственному стандарту.............29

[Библиография 30](#_Toc97732598)

**Введение**

ISO 18363 представляет собой серию международных стандартов, которые могут быть использованы для определения содержания сложных эфиров монохлорпропандиола (МХПД) и глицидола. В разделе Введение дается 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)[[9](#Reference_ref_10)] и идентичный официальному методу Official Method Cd 29c-13[[6](#Reference_ref_7)]. 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, тогда как 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 применима 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 документ не позволяет различать свободные и связанные соединения. Однако на момент публикации этого документа исследования не показали каких-либо доказательств содержания свободного аналита в том же количестве, что и содержание эстерифицированного аналита в рафинированных растительных маслах и жирах. В принципе, стандарт 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[[5](#Reference_ref_6)].. 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 холоду. 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. Стандарт 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 документ не позволяет различать свободные и связанные соединения. Однако на момент публикации этого документа исследования не показали каких-либо доказательств содержания свободного аналита в том же количестве, что и содержание этерифицированного соединения в растительных маслах и жирах.

 ISO 18363-3 представляет собой официальный метод AOCS Official Method Cd 29a-13[[4](#Reference_ref_5)]. 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. ISO 18363-3 может применяться для определения сложных эфиров 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в рафинированных и нерафинированных растительных маслах и жирах. ISO 18363-3 может применяться к животным жирам, а также к отработанным маслам и жирам для жарки, но перед анализом таких образцов необходимо провести валидационное исследование. Данный метод подходит для анализа связанных (эстерифицированных) 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 документа исследования не показали каких-либо доказательств того, что содержание свободного аналита в растительных маслах и жирах столь же высоко, как и содержание определяемого эстерифицированного аналита.

 Данный документ устанавливает ускоренный метод, основанный на быстром щелочном расщеплении сложных эфиров МХПД и глицидиловых эфиров. Выделившийся глицидол затем преобразуется в 3-МБПД. pH быстрого щелочного расщепления обычно способствует частичному преобразованию выделившегося МХПД в глицидол во процессе расщепления сложных эфиров, что приводит к завышению содержания сложного эфира глицидола в пробе. Посредством добавления двух разных меченных изотопами внутренних стандартов сложных эфиров 3-МХПД и глицидола, можно определить количество меченого глицидола, полученного в результате разложения 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 глицидола. По аналогии с ISO 18363-1, ISO 18363-2 и ISO 18363-3, выделенные МХПД и 3-МБПД перед анализом методом ГХ-МС/МС дериватизируют с фенилборной кислотой. В отличие от других частей ISO 18363, данный документ требует оборудования ГХ-МС/МС для однозначного обнаружения каждого из (меченных изотопами) МБПД, необходимых для правильного количественного определения глицидола, индуцированного глицидиловым эфиром. Данный документ 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 отработанным жирам и маслам для жарки, но перед анализом этих образцов требуется валидационное исследование. Любые свободные аналиты в образце включаются в результаты, но документ не позволяет проводить различие между свободными и связанными аналитами. Однако на момент публикации данного документа исследования не выявили никаких доказательств того, что содержание свободных аналитов в растительных маслах и жирах столь же высоко, как содержание эстерифицированных аналитов.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**ЖИРЫ И МАСЛА ЖИВОТНЫЕ И РАСТИТЕЛЬНЫЕ**

**Определение содержания сложных эфиров**

**монохлорпропандиолов (МХПД) и глицидола**

**с применением ГХ/МС**

**Ч а с т ь  4**

 **Метод с использованием быстрой щелочной переэтерификации и измерение содержания 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола с применением ГХ/МС/МС**

**Animal and vegetable fats and oils. Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS. Part 4. Method using fast alkaline transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol by GC-MS/MS**

###  Дата введения –

###

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает быстрый метод одновременного определения сложных эфиров 2-МХПД (связанных 2-МХПД), сложных эфиров 3‐МХПД (связанных 3‐МХПД) и глицидиловых эфиров (связанного глицидола) в одном анализе, основанном на расщеплении сложных эфиров, катализируемом щелочной средой, и дериватизации расщепленных (свободных) анализируемых веществ (далее аналитов) фенилборной кислотой (ФБК) перед проведением анализа методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии/масс-спектрометрии (ГХ-МС/МС). Завышенная оценка глицидиловых эфиров корректируется добавлением меченного изотопами сложного эфира 3-МХПД, что позволяет количественно определить глицидол, индуцированный 3-МХПД, в процессе анализа.

Настоящий стандарт применим к твердым и жидким жирам и маслам. Он также применим к животным жирам и использованным фритюрным жирам и маслам для жарки, но эти матрицы не были включены в валидацию. Для всех трех аналитов предел количественного определения (LOQ) составляет 0,1 мг/кг, а предел обнаружения (LOD) составляет 0,03 мг/кг.

Молоко и молочные продукты (или жиры из молока и молочных продуктов), детское питание, эмульгаторы, свободные жирные кислоты и другие матрицы на основе жиров и масел исключены из области применения настоящего стандарта.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий стандарт. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — 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)

**3 Термины и определения**

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями.

Организации ИСО и МЭК ведут терминологические базы данных для применения в стандартизации по следующим ссылкам:

⎯ платформа интернет-поиска ISO: доступна по адресу <https://www.iso.org/obp>.

IEC Electropedia: доступна по адресу <https://www.electropedia.org/>

**3.1 связанный 2-МХПД** (bound 2-MCPD)**:** Количество 2-МХПД, полученное после расщепления его эстерифицированных (связанных) форм путем переэтерификации, катализируемой щелочью, в соответствии с эталонным методом.

П р и м е ч а н и е ─ Содержание 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, полученное после расщепления его эстерифицированных (связанных) форм путем переэтерификации, катализируемой щелочью в соответствии с эталонным методом

П р и м е ч а н и е ─ Содержание 3‐МХПД вычисляют и выражают как массовую долю, в миллиграммах на килограмм (мг/кг).

**3.3 связанный глицидол** (bound glycidol): Количество глицидола, полученное после расщепления его эстерифицированных (связанных) форм путем переэтерификации, катализируемой щелочью в соответствии с эталонным методом

П р и м е ч а н и е ─ Содержание глицидола вычисляют и выражают как массовую долю, в миллиграммах на килограмм (мг/кг).

**4 Сущность метода**

4.1 Пробу масла или жира растворяют в толуоле и *трет*-бутил –метиловом эфире и добавляют внутренние стандарты (диэфир 3-МХПД-13C3 и пентадейтерированный глицидиловый эфир). Затем пробу охлаждают до 10 °C, прежде чем начать щелочную переэтерификацию посредством добавления раствора метоксида натрия в метаноле. После 12 мин выдерживания при 10 °C, смесь подкисляют кислым раствором бромида натрия, для преобразования высвобожденного глицидола в 3-МБПД. Метиловые эфиры жирных кислот, образовавшиеся в ходе переэтерификации, удаляют двойной экстракцией органического слоя. Наконец, очищенную пробу, содержащую расщепленные (свободные) аналиты, дериватизируют фенилборной кислотой перед проведением ГХ-МС/МС анализа.

4.2 Количественное определение сложных эфиров 2-МХПД и 3-МХПД основано на соотношении сигналов 2-МХПД/3-МХПД-13C3 и 3-МХПД/3-МХПД-13C3, соответственно. Количественное определение сложного эфира глицидола основано на соотношении сигналов 3-МБПД/3-МБПД-d5. Количество 3-МБПД-13C3, образовавшееся после реакции переэтерификации, указывает на количество высвобожденного 3-МХПД-13C3, который разложился до глицидола в условиях щелочной переэтерификации. Поскольку разницы в скоростях разложения между 3-МХПД и 3-МХПД-13C3 не наблюдается, последний используется для коррекции завышенной оценки глицидилового эфира, вызванной глицидолом, индуцированным разложением 3-МХПД. В условиях анализа 2-МХПД считается стабильным и таким образом не оказывает заметного влияния на возможную завышенную оценку глицидола [[7](#Reference_ref_8)][[8](#Reference_ref_9)].

Данный метод позволяет одновременно количественно определить все три аналита в одном анализе.

**5 Реактивы**

**5.1 Общие положения**

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

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

**5.2** **Стандартные и контрольные вещества**

5.2.1 1,2-Дипальмитоил-3-хлорпропандиол (PP-3-МХПД), чистота ≥ 95 %.

 П р и м е ч а н и е ─ 1,2-Дипальмитоил-3-хлорпропандиол можно заменить 1,2-диолеил-3-хлорпропандиолом или другими диэфирами жирных кислот и 3-МХПД с аналогичной длиной цепи (предпочтительно от C16 до C18, поскольку они наиболее часто встречаются в большинстве жиров или масел).

 5.2.2 1,3-Дистеароил-2-хлорпропандиол (SS-2-МХПД), чистота ≥ 95 %.

 П р и м е ч а н и е ─ По аналогии с рекомендациями, приведенными для PP-3-МХПД, 1,3-дистеароил-2-хлорпропандиол можно заменить другими диэфирами жирных кислот и 2-МХПД с аналогичной длиной цепи (предпочтительно от C16 до C18, поскольку они наиболее часто встречаются в большинстве жиров или масел).

 5.2.3 Меченный углеродом C-13 (PP-3-МХПД-13C3), чистота ≥ 95 %.

 П р и м е ч а н и е ─ Соображения, применявшиеся к 1,2-дипальмитоил-3-хлорпропандиолу, также действительны в отношении его меченного углеродом-13 аналога, см. примечание к [5.2.1](#Section_sec_5.2.1).

 5.2.4 Глицидилстеарат (Gly-S), чистота ≥ 98 %.

 П р и м е ч а н и е ─ Глицидилстеарат можно заменить глицидилолеатом или другими сложными эфирами жирных кислот и глицидола с аналогичной длиной цепи (предпочтительно от C16 до C18, поскольку они наиболее часто встречаются в большинстве жиров или масел).

5.2.5 Пентадейтерированный глицидилстеарат (Gly-S-d5), чистота ≥ 98 %.

 П р и м е ч а н и е ─ Те же самые соображения, применяемые к глицидилстеарату, справедливы и для его пентадейтерированного аналога, см. примечание к [5.2.4](#Section_sec_5.2.4).

**5.3** **Стандартные растворы**

**5.3.1 Общие положения**

Все стандартные растворы приготовлены с толуолом ([5.4.4](#Section_sec_5.4.4)). Все стандарты приготовлены с использованием сложных эфиров контрольных веществ ([5.2](#Section_sec_5.2)). Концентрации приведены, как эквивалентные концентрации свободного компонента, и должны быть скорректированы с учетом чистоты контрольных веществ ([5.2](#Section_sec_5.2)). Пример пересчета концентрации сложного эфира на концентрацию эквивалентного свободного вещества см. в [10.2](#Section_sec_10.2).

**5.3.1** **Исходные растворы**

П р и м е ч а н и е ─ Исходные растворы стабильны в течение минимум 12 месяцев при хранении при температуре минус 18 °C. Использование ультразвуковой ванны поможет обеспечить полное растворение всех стандартов.

5.3.2.1 Калибровочный исходный раствор (3-МХПД: 52,7 мкг/мл, глицидол: 52,2 мкг/мл, 2-МХПД: 48,1 мкг/мл). Взвешивают 14,0 мг PP-3-МХПД ([5.2.1](#Section_sec_5.2.1)), 12,0 мг Gly-S ([5.2.4](#Section_sec_5.2.4)) и 14,0 мг SS-2-МХПД ([5.2.2](#Section_sec_5.2.2)) в мерной колбе вместимостью 50 мл. Доводят до метки, убедившись, что стандарты полностью растворились в растворителе.

5.3.2.2 Добавочный исходный раствор (3-МХПД: 52,7 мкг/мл, глицидол: 52,2 мкг/мл, 2-МХПД: 34,4 мкг/мл). Берут навеску 14,0 мг PP-3-МХПД ([5.2.1](#Section_sec_5.2.1)), 12,0 мг Gly-S ([5.2.4](#Section_sec_5.2.4)) и 10,0 мг SS-2-МХПД ([5.2.2](#Section_sec_5.2.2)) в мерную колбу вместимостью 50 мл. Доводят до метки, убедившись, что стандарты полностью растворились в растворителе.

5.3.2.3 Исходный раствор PP-3-МХПД-13C3 (3-МХПД-13C3: 38,5 мкг/мл). Берут навеску 20 мг PP-3-МХПД-13C3 ([5.2.3](#Section_sec_5.2.3)) в мерную колбу вместимостью 100 мл. Доводят до метки, убедившись, что стандарт полностью растворен в растворителе.

5.3.2.4 Исходный раствор Gly-S-d5 (Глицидол-d5: 45,8 мкг/мл). Берут навеску 10 мг Gly-S-d5 ([5.2.5](#Section_sec_5.2.5)) в мерную колбу вместимостью 50 мл. Доводят до метки, убедившись, что стандарт полностью растворен в растворителе.

**5.3.3** **Рабочие растворы**

Рекомендуется готовить свежие калибровочные рабочие растворы в день проведения анализа.

Концентрации всех исходных и стандартных растворов необходимо корректировать с учетом чистоты используемых стандартов.

П р и м е ч а н и е ─ Добавочный раствор ([5.3.3.4](#Section_sec_5.3.3.4)) и раствор внутреннего стандарта ([5.3.3.5](#Section_sec_5.3.3.5)) можно хранить в холодильнике не менее трех месяцев.

5.3.3.1 Калибровочный рабочий раствор I (3-МХПД: 7,9 мкг/мл, глицидол: 7,8 мкг/мл, 2-МХПД: 7,2 мкг/мл). Пипеткой переносят 300 мкл исходного раствора ([5.3.2.1](#Section_sec_5.3.2.1)) в виалу для ГХ вместимостью 2,5 мл, содержащую 1 700 мкл толуола ([5.4.4](#Section_sec_5.4.4)) и гомогенизируют с помощью вихревой мешалки.

5.3.3.2 Калибровочный рабочий раствор II (3-МХПД: 3,2 мкг/мл, глицидол: 3,1 мкг/мл, 2-МХПД: 2,9 мкг/мл). Пипеткой переносят 120 мкл исходного раствора ([5.3.2.1](#Section_sec_5.3.2.1)) в виалу для ГХ вместимостью 2,5 мл, содержащую 1 880 мкл толуола ([5.4.4](#Section_sec_5.4.4)) и гомогенизируют с помощью вихревой мешалки.

5.3.3.3 Калибровочный рабочий раствор III (3-МХПД: 0,16 мкг/мл, глицидол: 0,16 мкг/мл, 2-МХПД: 0,14 мкг/мл). Пипеткой переносят 40 мкл градуировочного рабочего раствора I ([5.3.3.1](#Section_sec_5.3.3.1)) в виалу для ГХ вместимостью 2,5 мл, содержащую 1 960 мкл толуола ([5.4.4](#Section_sec_5.4.4)) и гомогенизируют с помощью вихревой мешалки.

5.3.3.4 Добавочный раствор (3-МХПД: 1,05 мкг/мл, глицидол: 1,04 мкг/мл, 2-МХПД: 0,69 мкг/мл). Пипеткой переносят 5,0 мл добавочного исходного раствора ([5.3.2.2](#Section_sec_5.3.2.2)) в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят до метки растворителем.

5.3.3.5 Раствор внутреннего стандарта (3-МХПД-13C3: 1,54 мкг/мл, глицидол-d5: 0,92 мкг/мл). Пипеткой переносят 5,0 мл Gly-S-d5 ([5.3.2.4](#Section_sec_5.3.2.4)) и 10,0 мл PP-3-МХПД-13C3 ([5.3.2.3](#Section_sec_5.3.2.3)) в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят до метки растворителем.

**5.4** **Другие реактивы**

5.4.1 Метанол, аналитической степени чистоты.

5.4.2 Изооктан, аналитической степени чистоты.

5.4.3 Ацетон, аналитической степени чистоты.

5.4.4 Толуол, аналитической степени чистоты.

5.4.5 *Трет*-бутил-метиловый эфир, аналитической степени чистоты.

5.4.6 Вода, ультрачистая.

5.4.7 Серная кислота (чистота ≥ 95 %).

5.4.8 Фенилборная кислота (чистота ≥ 97 %).

5.4.9 Бромид натрия (чистота ≥ 99,5 %).

5.4.10 Раствор метоксида натрия в метаноле (массовая доля 25 %).

5.4.11 Растительное масло холодного отжима без термической обработки (контрольное масло, см. [9.4](#Section_sec_9.4)).

**5.5** **Растворы реактивов**

5.5.1 Водный раствор серной кислоты (25 %). Переносят 25 мл серной кислоты ([5.4.7](#Section_sec_5.4.7)) в мерную колбу вместимостью 100 мл, содержащую 50 мл воды ([5.4.6](#Section_sec_5.4.6)). Доводят до метки водой ([5.4.6](#Section_sec_5.4.6)) и гомогенизируют.

5.5.2 Кислый водный раствор бромида натрия (бромид натрия 600 мг/мл, объемная доля серной кислоты 0,9 %). Растворяют 600 г бромида натрия ([5.4.9](#Section_sec_5.4.9)) в 700 мл воды ([5.4.6](#Section_sec_5.4.6)). Переносят раствор бромида натрия в мерную колбу вместимостью 1 000 мл, содержащую 36 мл раствора серной кислоты ([5.5.1](#Section_sec_5.5.1)). Доводят до метки водой ([5.4.6](#Section_sec_5.4.6)) и гомогенизируют.

5.5.3 Раствор метоксида натрия (0,35M). Переносят 20 мл метоксида натрия (массовая доля 25 %) ([5.4.10](#Section_sec_5.4.10)) в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят до метки метанолом ([5.4.1](#Section_sec_5.4.1)) и гомогенизируют.

П р и м е ч а н и е ─ Раствор метоксида натрия (0,35M) можно хранить в холодильнике в течение не менее трех месяцев.

5.5.4 Раствор фенилборной кислоты (насыщенный). Берут навеску 12,0 г фенилборной кислоты ([5.4.8](#Section_sec_5.4.8)) и добавляют 100 мл смеси воды ([5.4.6](#Section_sec_5.4.6)) с ацетоном ([5.4.3](#Section_sec_5.4.3)) с объемной долей воды 5 %. Энергично встряхивают.

П р и м е ч а н и е Фенилборная кислота полностью не растворяется в смеси растворителей. На этапе дериватизации используют только надосадочный слой (см. [8.1.11](#Section_sec_8.1.11)). Этот раствор можно хранить при комнатной температуре в течение не менее трех месяцев.

**6** **Оборудование**

6.1 Вихревая мешалка.

6.2 Охлаждаемый лоток для проб, с поддерживаемой температурой 10 °C ± 0,5 °C.

6.3 Подогреваемый лоток для пробы, с возможностью перемешивания, с поддерживаемой температурой 80 °C ± 4,0 °C.

6.4 Ультразвуковая ванна.

6.5 Система ГХ-МС/МС, с инжектором с разделением/без разделения потока и опцией обратной продувки.

6.6 ГХ-колонка из плавленого кварца, неподвижная фаза: 5 % дифенила –95 % диметилполисилоксана или аналогичной полярности, длиной 20 м, внутренним диаметром 0,18 мм, толщиной пленки 0,18 мкм. Предколонка: неподвижная фаза: 5 % дифенила – 95 % диметилполисилоксана или аналогичной полярности, длиной 2 м, внутренним диаметром 0,53 мм, толщиной пленки 0,10 мкм.

Предколонку периодически заменяют для сохранения хорошей формы пика и чувствительности.

6.7 Электронная пипетка, позволяющая дозировать объем от 1,0 мкл до 1 000 мкл.

Использование электронной пипетки рекомендуется для последовательного добавления точных количеств растворов внутренних стандартов или разведения стандартов для калибровки.

**7 Проба и хранение**

**7.1 Отбор проб**

Отбор проб не является предметом данного метода. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в ISO 5555.

**7.2 Подготовка пробы для испытания**

Жидкие пробы используют без дополнительной обработки. Твердые или непрозрачные жиры осторожно расплавляют при температуре приблизительно 60 °C в сушильном шкафу или на водяной бане. Для высокоплавких жиров температуру увеличивают постепенно, с шагом 10 °C, пока не начнется процесс плавления. Пробы с большим содержанием воды перед отбором проб необходимо высушить (например, безводным Na2SO4).

Жиры и масла с температурами плавления выше 60 °C часто затвердевают в процессе выдерживания при температуре 10 °C в присутствии реакционной среды (см. [8.1.4](#Section_sec_8.1.4)). Это влияет на полноту расщепления сложного эфира, поскольку скорость реакции существенно снижается. Для поддержания реакции важно, чтобы высокоплавкие жиры образовывали молочный раствор. Полностью затвердевшие пробы обычно показывают низкую интенсивность сигнала и невоспроизводимые результаты. Сигналы внутреннего стандарта являются эффективными маркерами для обнаружения проб, которые с трудом подвергаются реакции расщепления. Если сигналы внутреннего стандарта пробы составляют менее 50 % от средних сигналов внутреннего стандарта проб для определения выхода, необходимо заново готовить пробы с меньшим содержанием жира или масла.

**7.3 Условия хранения**

На концентрации глицидиловых эфиров влияют условия хранения, тогда как на концентрации эфиров МХПД ─ не влияют. Подтверждено, что комнатная температура (22 °C) обеспечивает наилучшую стабильность как для глицидиловых эфиров, так и для сложных эфиров МХПД и, таким образом, пробы следует хранить именно в таких условиях. Пробы нельзя хранить в холодильнике (при 4 °C), поскольку там со временем может произойти разложение глицидиловых эфиров.

**8 Проведение испытания**

**8.1 Подготовка пробы для испытания**

П р и м е ч а н и е ─ Процедура приведена для одной пробы. График подготовки параллельных проб серии из 20 проб для этапов 8.1.5 и 8.1.6 приведен в Таблице А.2.

8.1.1 Берут навеску от 100 мг до 120 мг пробы масла или жира (с точностью до 0,01 мг) в виале для ГХ вместимостью 2,5 мл. Для жиров и масел с температурами плавления выше 60 °C, берут навеску не более 100 мг жира, чтобы предотвратить застывание реакционной смеси в ходе переэтерификации (см. 10.1).

8.1.2 Ко всем пробам добавляют 100 мкл толуола (5.4.4) и 200 мкл *трет*-бутил-метилового эфира (5.4.5), а затем 100 мкл рабочего раствора внутреннего стандарта (5.3.3.5).

Этапы 8.1.3 ─ 8.1.9 должны выполняться без перерывов, чтобы обеспечить правильное количественное определение.

8.1.3 Перемешивают все пробы с помощью нагреваемой мешалки (80 °C, 250 об/мин) в течение 120 с или пока весь жир не расплавится и не растворится.

8.1.4 Гомогенизируют в течение 10 с с помощью вихревой мешалки и помещают виалы в охлаждаемый лоток для проб (10 °C). Оставляют их охлаждаться в течение точно 240 с.

8.1.5 Начинают переэтерификацию, добавляя 200 мкл раствора метоксида натрия (5.5.3). Гомогенизируют в течение 10 с после добавления раствора метоксида натрия (5.5.3), используя вихревую мешалку, и помещают пробу обратно на охлаждаемый лоток.

8.1.6 Спустя точно 12 мин останавливают реакцию, добавляя 700 мкл кислого водного раствора бромида натрия (5.5.2). Гомогенизируют в течение 10 с с помощью вихревой мешалки и оставляют стабилизироваться при комнатной температуре в течение не менее 5 мин для полного преобразования всего глицидола в 3-МБПД.

8.1.7 Добавляют во все пробы по 300 мкл изооктана (5.4.2) и гомогенизируют с помощью вихревой мешалки в течение 10 с.

8.1.8 Все пробы перемешивают с помощью нагреваемой мешалки (80 °C, 400 об/мин) в течение 270 с ± 10 с или до полного растворения и гомогенизации (частично) затвердевшего или желатинированного верхнего слоя (см. 7.2).

8.1.9 Дают пробам остыть в течение 3 мин перед отделением органического слоя, следя за тем, чтобы не удалить часть водного слоя, и отбрасывают экстракт.

8.1.10 Добавляют 600 мкл свежего изооктана (5.4.2) и гомогенизируют с помощью вихревой мешалки в течение 10 с с последующим отделением органического слоя, следя за тем, чтобы не удалить часть водного слоя. Экстракт отбрасывают.

8.1.11 Добавляют 100 мкл раствора фенилборной кислоты (5.5.4) и гомогенизируют с помощью вихревой мешалки в течение 10 с.

8.1.12 Добавляют 600 мкл свежего изооктана (5.4.2) и гомогенизируют с помощью вихревой мешалки в течение 10 с, чтобы извлечь производные и проанализировать методом ГХ-МС/МС, путем введения 2,0 мкл органической фазы.

**8.2 Построение калибровочной кривой**

8.2.1 В 10 виал для ГХ вместимостью 2,5 мл взвешивают по 100 ─ 120 мг контрольного масла ([5.4.11](#Section_sec_5.4.11)). Добавляют толуол ([5.4.4](#Section_sec_5.4.4)), *трет*-бутил-метиловый эфир ([5.4.5](#Section_sec_5.4.5)), раствор внутреннего стандарта ([5.3.3.5](#Section_sec_5.3.3.5)) и соответствующий калибровочный раствор ([5.3.3.1](#Section_sec_5.3.3.1) - [5.3.3.3](#Section_sec_5.3.3.3)), как показано в Таблице А.1.

8.2.2 Обрабатывают калибровочные пробы согласно процедуре, использованной для испытуемых проб, начиная с растворения пробы (см. [8.1.3](#Section_sec_8.1.3)).

Все соотношения растворителя и реактивов должны быть одинаковыми для всех калибровочных проб и неизвестных проб, как описано в [8.1](#Section_sec_8.1).

**8.3 Параметры газовой хроматографии и масс-спектрометрии**

8.3.1 Вводимый объем: 2,0 мкл.

8.3.2 Режим ввода: без разделения потока, время без разделения = 2,0 мин.

8.3.3 Температура при вводе пробы: 350 °C.

8.3.4 Газ-носитель: гелий, скорость потока: 1,7 мл/мин, постоянный поток продувки септы: 5,0 мл/мин, разделенный поток = 100 мл/мин.

8.3.5 Время начала обратной продувки: 6,0 мин. Параметры начала обратной продувки должны определяться заново после каждого изменения, касающегося аналитической колонки или предколонки.

8.3.6 Температурная программа печи ГХ: 70 °C (изотермический режим в течение 1 мин), от 70 °C до 120 °C со скоростью 15 °C/мин (изотермический режим в течение 0,5 мин), от 120 °C до 350 °C со скоростью 40 °C/мин (изотермический режим в течение 2,5 мин).

8.3.7 Тандемный масс-спектрометрический детектор: электронно-ударный (ЭУ), мониторинг выбранных реакций (SRM) температура линии передачи: 315 °C, температура ионного источника: 290 °C.

8.3.8 Пример времени удерживания ± поправка: 3-МХПД (6,70 ± 0,3) мин, 2-МХПД (6,80 ± 0,3) мин и 3-МБПД (7,00 ± 0,3) мин. Фактические значения времени удерживания могут отличаться для разных колонок.

Параметры для массовых переходов МС/МС приведены в Таблице 1. Примеры хроматограмм представлены в Приложении С.

Таблица 1 — Обзор настроек тандемного масс-спектрометрического детектора для массовых переходов каждой пары ионов

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Название компонента | Родительский (исходный) ионQ1масса/заряд [m/z] | Ячейка соударенийQ2eVa | Дочерний ионQ3масса/заряд [m/z] | Цель массового перехода |
| 3-МХПД | 196 | 8 | 147 | Количественное определение 3-МХПД |
| 3-МХПД | 198 | 8 | 147 | Количественное определение 3-МХПД |
| 3-МХПД-13C3 | 199 | 8 | 149 | Количественное определениеВнутренний стандарт 3-МХПД/2-МХПД |
| 3-МХПД-13C3 | 201 | 8 | 149 | Количественное определениеВнутренний стандарт 3-МХПД/2-МХПД |
| 2-МХПД | 196 | 14 | 104 | Количественное определение 2-МХПД |
| 2-МХПД | 198 | 14 | 104 | Количественное определение 2-МХПД |
| 3-МБПД | 240 | 8 | 147 | Количественное определение глицидола |
| 3-МБПД | 242 | 8 | 147 | Количественное определение глицидола |
| 3-МБПД-13C3b | 243 | 8 | 149 | Количественное определениеЗавышенная оценка глицидола из 3-МХПД |
| 3-МБПД-d5 | 245 | 8 | 150 | Количественное определениеВнутренний стандарт глицидола |
| 3-МБПД-d5 | 247 | 8 | 150 | Количественное определениеВнутренний стандарт глицидола |
| a Параметры eVa в ячейке соударений могут отличаться для разных типов тандемных масс-спектрометров, систем от разных производителей, или для того и другого вместе, и требуют оптимизации для каждой отдельной системы.b Квалификационный массовый переход для 3-МБПД-13C3 невозможен за счет эффекта интерференции природного изотопа 13C 3-МБПД (m/z 242), который извлекается совместно с ним в описанных условиях. |

**9 Обработка результатов**

**9.1 Общие положения**

Обработка результатов должна происходить в определенном порядке, так чтобы можно было количественно определить и скорректировать завышение результата определения глицидола. 3-МХПД является источником образования глицидола *in vitro* в процессе реакции переэтерификации (см. [8.1.5](#Section_sec_8.1.5)), причем количество образовавшегося глицидола прямо пропорционально концентрации сложного эфира[[8](#Reference_ref_9)] 3-МХПД. Поэтому сначала определяют количественно сложные эфиры 2-МХПД и 3-МХПД по формулам, приведенным в [9.2](#Section_sec_9.2).

В подразделе 9.3 представлены расчеты для глицидиловых эфиров. Вначале определяют общее количество глицидола. Поскольку 3-МХПД-13C3 присутствует в известном количестве, он служит модельным соединением для имитации разложения 3-МХПД в процессе переэтерификации. Поскольку как меченый, так и немеченый 3-МХПД преобразуются в свой глицидоловый аналог с одинаковой скоростью и независимо от концентрации 3-МХПД, количество глицидол-13C3 (см. [9.3.3](#Section_sec_9.3.3)) служит одноточечной калибровкой для вычисления количества глицидола, индуцированного эфирами 3-МХПД (см. [9.3.4](#Section_sec_9.3.4))[[8](#Reference_ref_9)]. Преобразование 3-МХПД в глицидол не зависит от матрицы. Следовательно, все формулы, описанные в [9.2](#Section_sec_9.2) и [9.3](#Section_sec_9.3), должны применяться ко всем пробам без исключения, включая пробы с добавкой для определения выхода.

**9.2 Количественное определение сложных эфиров 2-МХПД- и 3-МХПД**

9.2.1 Строят калибровочную кривую, откладывая по оси *х* отношение количества стандарта (в пересчете на свободный эквивалент x-МХПД) к количеству внутреннего стандарта (в пересчете на свободный эквивалент 3-МХПД-13C3), а по оси *у* - отношение площадей соответствующих пиков. Для количественного определения используются ионы с отношением m/z 104 (2-МХПД) или m/z 147 (3-МХПД) and 149 (3-МХПД-13C3). Рассчитывают линию регрессии по формуле (1):

 *y* = *ax* + *b* (1)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| где |  *y* ─ |  измеренное отношение сигналов 2-/3-МХПД и 3-МХПД-13C3; |
|   | *x* ─ |  теоретическое отношение 2-/3-МХПД (мкг) к 3-МХПД-13C3 (мкг) в калибровочной пробе; |
|   | *a* ─  | наклон калибровочной кривой; |
|   | *b* ─  |  отрезок, отсекаемый калибровочной кривой на оси *y*.  |

 Следует убедиться, что линейность хорошая (*R*2 > 0,99) и отрезок на оси *y* предпочтительно < |0,01|, для достижения хорошей точности для проб при очень низкой концентрации сложных эфиров 2-/3-МХПД. См. [10.4](#Section_sec_10.4).

 9.2.2Определяют концентрацию эфиров 2-МХПД и 3-МХПД в испытуемой пробе (мг/кг) по формуле (2):

|  |  |
| --- | --- |
|   | (2) |
| где    | *w*uncorrected ─ | нескорректированная концентрация сложных эфиров 2-/3-МХПД в испытуемой пробе (в пересчете на 2-/3-МХПД, мг/кг масла); |
|   |  *A*analyte ─ | площадь пика немеченого аналита (2-МХПД, m/z 104 или 3-МХПД, m/z 147); |
|   |  *m*IS ─ | масса (в мкг) 3-МХПД-13C3, добавленного в испытуемую пробу; |
|    |  *A*IS ─ | площадь пика производного 3-МХПД-13C3 (m/z 149); |
|   |  *a* ─ | наклон калибровочной кривой; |
|   |  *b* ─ | отрезок, отсекаемый калибровочной кривой на оси *y*. |
|   |  *m*sample ─ | масса пробы (в мг). |

 9.2.3 Определяют выход сложных эфиров 2-/3-МХПД в контрольных пробах масла с добавкой (%) по формуле (3):

|  |  |
| --- | --- |
|  | (3) |

где

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   |  *R* ─ | выход (%) для сложных эфиров 2-/3-МХПД в серии испытуемых проб; |
|   | *w*spiked blank oil ─ | усредненная нескорректированная концентрация эфиров 2-/3-МХПД полученная в соответствии с [9.2.2](#Section_sec_9.2.2) для контрольных проб масла с добавкой; |
|   |  *w*theoretical ─ | вычисленная теоретическая концентрация сложных эфиров 2-/3-МХПД в контрольных пробах масла с добавкой (мг/кг), вычисленная исходя из массы пробы и концентрации раствора с добавкой ([5.3.3.4](#Section_sec_5.3.3.4)). |

9.2.4 Определяют конечный результат для сложных эфиров 2-/3-МХПД в испытуемой пробе (мг/кг) по формуле (4):

|  |  |
| --- | --- |
|  | (4) |
| где   |  *w*final ─ | конечная скорректированная концентрация сложных эфиров 2-/3-МХПД в испытуемой пробе (в пересчете на свободный 2-/3-МХПД), мг/кг масла; |
|   |  *w*uncorrected ─ | нескорректированная концентрация сложных эфиров 2-/3-МХПД (в пересчете на свободный 2-/3-МХПД), в испытуемой пробе, мг/кг масла, полученная в [9.2.2](#Section_sec_9.2.2); |
|   |  *R* ─ | рассчитанный выход (%), полученный в [9.2.3](#Section_sec_9.2.3). |

**9.3 Количественное определение глицидиловых эфиров**

 9.3.1 Строят калибровочную кривую, откладывая по оси *х* отношение количества стандарта (в пересчете на эквивалент глицидола) к количеству внутреннего стандарта (в пересчете на эквивалент дейтерированного глицидола), а по оси *у* - отношение площадей соответствующих пиков. Для количественного определения используются ионы с отношением m/z 147 **(**3-МБПД) и m/z 150 (3-МБПД-d5). Рассчитывают линию регрессии по формуле (5):

 *y* = *ax* + *b* (5)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| где   | *y* ─ | измеренное отношение сигналов 3-МБПД и 3-МБПД-d5; |
|   | *x* ─ | теоретическое отношение 3-МБПД (мкг) и 3-МБПД-d5 (мкг) в калибровочной пробе; |
|   | *a* ─  | наклон калибровочной кривой; |
|   | *b* ─ | отрезок, отсекаемый калибровочной кривой на оси *y*. |

 Следует убедиться, что линейность хорошая (*R*2 > 0,99) и отрезок на оси *y* предпочтительно < |0,01|, для достижения хорошей точности для проб при очень низкой концентрации глицидиловых эфиров. См. [10.4](#Section_sec_10.4).

 9.3.2 Определяют общую концентрацию глицидола в испытуемой пробе (мг/кг) по формуле (6):

|  |  |
| --- | --- |
|  |  (6) |
| где   |  *w*uncorrected ─ | общая концентрация глицидола в испытуемой пробе (в пересчете на свободный глицидол, мг/кг масла); |
|   |  *A*analyte ─ | площадь пика производного 3-МБПД (m/z = 147); |
|   |  *m*IS ─ | масса (в мкг) глицидола-d5, добавленного в испытуемую пробу; |
|   |  *A*IS ─ | площадь пика производного 3-МБПД-d5 (m/z = 150); |
|   |  *a* ─ | наклон калибровочной кривой; |
|   |  *b* ─ | отрезок, отсекаемый калибровочной кривой на оси y. |
|   | *m*sample | масса пробы, мг. |

9.3.3 Определяют количество глицидол-13C3, образовавшегося в результате щелочной переэтерификации, мг/кг, по формуле (7), см. [10.3](#_p_formula_7):

|  |  |
| --- | --- |
|  | (7) |
| где   |  *w*gly13C3 ─ | концентрация глицидол-13C3 в испытуемой пробе (в пересчете на свободный глицидол-13C3), мг/кг масла; |
|   |  *A*analyte ─ | площадь пика производного 3-МБПД-13C3 (m/z = 149); |
|   |  *m*IS ─ | масса (в мкг) глицидола-d5, добавленного к испытуемой пробе; |
|   |  *A*IS ─ | площадь пика производного 3-МБПД-d5 (m/z = 150); |
|   |  *m*sample ─ | масса пробы, в мг. |

 9.3.4 Определяют концентрацию глицидола, индуцированного 3-МХПД в результате щелочной переэтерификации, мг/кг, по формуле (8):

|  |  |
| --- | --- |
|  | (8) |
| где  |  *w*glyMCPD ─ | концентрация глицидола, индуцированного 3-МХПД, в испытуемой пробе (в пересчете на свободный глицидол), мг/кг масла; |
|   |  *R*3-MCPDe ─ | концентрация сложных эфиров 3-МХПД в испытуемой пробе (см. [9.2.4](#Section_sec_9.2.4)); |
|   | *w*3-MCPD-13C3─  | концентрация (мг/кг масла) 3-МХПД-13C3, добавленного в испытуемую пробу; |
|   |  *w*gly13C3 ─ | концентрация (мг/кг масла) глицидол-13C3 в пробе (см. [9.3.3](#Section_sec_9.3.3)). |

9.3.5 Определяют концентрацию глицидола, индуцированного глицидиловыми эфирами, в испытуемой пробе, мг/кг, по формуле (9):

 *w*GE = *w*uncorrected – *w*glyMCPD  (9)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| где   |  *w*GE ─ | концентрация глицидола, индуцированного глицидиловыми эфирами, в испытуемой пробе (в пересчете на свободный глицидол, мг/кг масла;  |
|   |  *w*uncorrected ─ | нескорректированная концентрация глицидола в испытуемой пробе (см. [9.3.2](#Section_sec_9.3.2)); |
|   |  *w*glyMCPD ─ | концентрация глицидола, индуцированного 3-МХПД, в испытуемой пробе, мг/кг масла (см. [9.3.4](#Section_sec_9.3.4)). |

 9.3.6Вычисляют выход глицидола, индуцированного глицидиловыми эфирами, %, по формуле (10):

|  |  |
| --- | --- |
|  | (10) |
| где   |  *R* ─ | выход глицидиловых эфиров в серии испытуемых проб, %; |
|   |  *w*spiked blank oil ─ | усредненный результат по [9.3.5](#Section_sec_9.3.5) для контрольных проб масла с добавкой; |
|   |  *w*theoretical ─ | вычисленная теоретическая концентрация глицидиловых эфиров в контрольных пробах масла с добавкой в зависимости от массы пробы и концентрации раствора с добавкой ([5.3.3.4](#Section_sec_5.3.3.4)), мг/кг. |

9.3.7Определяют конечный результат для глицидиловых эфиров в испытуемой пробе, мг/кг, по формуле (11):

|  |  |
| --- | --- |
|  | (11) |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| где  |  *w*final ─ | конечная скорректированная концентрация сложного эфира глицидола в испытуемой пробе (в пересчете на свободный глицидол), мг/кг масла; |
|   |  *w* ─ | концентрация глицидилового эфира в испытуемой пробе (в пересчете на свободный глицидол, мг/кг масла), полученная в [9.3.5](#Section_sec_9.3.5); |
|   |  *R ─* | рассчитанный выход, %, полученный в [9.3.6](#Section_sec_9.3.6). |

 **9.4 Контроль качества**

 Валидация метода должна быть проведена в соответствии с международными методическими рекомендациями по валидации аналитических методов.

 Факторы выхода (см. [9.2.3](#Section_sec_9.2.3) и [9.3.6](#Section_sec_9.3.6)) определяют не реже одного раза в сутки, двумя параллельными определениями, с помощью контрольной пробы термически необработанного растительного масла с добавочным раствором ([5.3.3.4](#Section_sec_5.3.3.4)).

 Для определения выхода заменяют 100 мкл толуола на этапе [8.1.2](#Section_sec_8.1.2) добавочным раствором ([5.3.3.4](#Section_sec_5.3.3.4)) в объеме 100 мкл. Остальная процедура идентична процедуре с испытуемыми пробами.

 Примеры подходящих термически необработанных растительных масел включают оливковое масло первого отжима и сырое рапсовое масло. Масла первого отжима и сырые растительные масла не содержат соединений глицидола или 2-/3-МХПД в обнаруживаемых количествах.

 Следует избегать введения добавок в большие количества контрольных проб жиров или масел, которые предполагается использовать в течение длительного периода времени. Некоторые контрольные масла содержат следовые количества неизвестных компонентов, которые могут вступить в реакцию с глицидиловыми эфирами, приводя к созданию нестабильных и снижающихся со временем концентраций. Поэтому настоятельно рекомендуется готовить свежие растворы с добавками непосредственно перед анализом, как описано в [8.1](#Section_sec_8.1).

 Для контроля специфичности и правильности метода ежедневно анализируют контрольный образец и заполняют карту контроля качества для всех аналитов по соответствующим данным.

**10 Примечания**

10.1Для некоторых матриц сырого масла или жира органический слой может частично затвердевать или желатинироваться[[7](#Reference_ref_8)]. Это не повлияет на количественное определение компонентов, если этап [8.1.8](#Section_sec_8.1.8) выполнен корректно. Если пробы с температурами плавления выше 60 °C проявляют признаки затвердевания во время переэтерификации или на этапе [8.1.8](#Section_sec_8.1.8) и площадь пиков внутренних стандартов составляет менее 50 % от типичных площадей пиков внутренних стандартов для проб с добавкой, используемых для определения выхода (см. [7.2](#Section_sec_7.2)), то подготовку проб требуется повторить с меньшей массой проб (менее 100 мг). Матрицы с таким особым поведением не использовались для валидации данного метода.

10.2Все используемые растворы внутренних стандартов готовят с помощью сложных эфиров контрольных соединений. Для всех расчетов в [9.2](#_p_formula_12) и [9.3](#_p_formula_12), используют эквивалентную концентрацию свободного соединения. Концентрации, перечисленные для стандартных растворов в [5.3](#_p_formula_12), также выражают как эквивалентные концентрации свободного соединения. Эти концентрации свободных эквивалентов 2-/3-МХПД и глицидола в мкг/мл основаны на массе сложных эфиров компонентов, перечисленных в [5.2](#_p_formula_12). В качестве стандартов можно использовать сложные эфиры других компонентов, но при этом соответствующим образом скорректировать массу сложного эфира соединения, чтобы получить аналогичные концентрации свободного эквивалента. [Формула (12)](#_p_formula_12) может быть использована для расчета требуемой массы сложного эфира стандарта, чтобы получить раствор желаемой концентрации свободного эквивалента в мкг/мл.

|  |  |
| --- | --- |
|   |  (12)  |
| где   |  *m*std ─ | масса взвешенного стандарта, мг; |
|   |  *m*mol ─ | молярная масса использованного стандарта МХПД или глицидилового эфира, г/моль; |
|   |  *m*free eq ─ | молярная масса свободного эквивалентного компонента; МХПД (110,539 г/моль) или глицидола (74,079 г/моль); |
|   |  *w*std sol ─ | желаемая концентрация свободного эквивалента в стандартном растворе, мг/л; |
|   |  *V*std so ─l | желаемый объем стандартного раствора. |

 10.3Применяя условия переэтерификации, описанные в Разделе 8 данного метода, преобразование 3-МХПД в глицидол ожидается от 5 % до 10 % для типичного контрольного масла. Такая скорость конверсии является стабильной в воспроизводимых условиях, но в значительной степени зависит от концентрации NaOCH3, температуры и времени реакции. Таким образом, скорость конверсии для проб для определения выхода, может служить дополнительной проверкой стабильности метода и контролем возможного разложения реактивов или погрешностей подготовки. Отклонение от этой скорости конверсии является типичным результатом отклонения температуры переэтерификации (неэффективное охлаждение) или концентрации NaOCH3 в соответствии с процедурой, описанной в [8.1](#Section_sec_8.1), или ошибками расчетов концентраций внутреннего стандарта.

 Пример ─ Для определения выхода, при концентрации 3-МХПД-13C3 равной 1,5 мг/кг в пробе, ожидаемая концентрация глицидола-13C3 составит от 0,08 мг/кг до 0,15 мг/кг, по расчетам в [9.3.4](#Section_sec_9.3.4).

 Кроме того, в описанных условиях, преобразование 2-МХПД в глицидол будет менее 1 %. Таким образом, поправка не учитывает глицидол, индуцированный 2-МХПД, поскольку этим можно пренебречь в отношении завышения содержания глицидилового эфира.

 10.4 Значения наклона калибровочной кривой следует ожидать в пределах от 0,80 до 1,00 и от 0,95 до 1,05 для 2-МХПД и 3-МХПД, соответственно. Можно ожидать, что для 3-MBPD наклон калибровочной кривой будет находиться между 1,00 и 1,25. Калибровочные кривые не требуется строить ежедневно и их можно применять в течение нескольких недель, при использовании специальных инструментов, до тех пор, пока стандарты выхода и пробы контроля качества используют для проверки достоверности калибровочной кривой.

 Для получения представительных калибровочных кривых крайне важно, чтобы калибровочные пробы и неизвестные пробы обрабатывались одинаково. Любые отклонения условий переэтерификации, такие как соотношение пробы и растворителя и типы растворителя будут давать разные наклоны. Наклоны, таким образом, можно использовать как еще одну точку контроля качества метода, для мониторинга его эффективности.

 Другими возможными причинами отклонений наклона являются проблемы приготовления исходных калибровочных растворов или ошибочный расчет теоретических соотношений между целевым аналитом и внутренним стандартом.

 10.5Обслуживание инжектора ([6.5](#Section_sec_6.5)) оказалось критически важным для гарантии точности метода, особенно для количественного определения глицидиловых эфиров. Если инжектор регулярно не очищать изопропанолом и не менять вкладыш, результаты по глицидиловым эфирам будут включать возрастающую положительную систематическую погрешность. Рекомендуемый интервал для обслуживания инжектора – один или два раза в неделю, в зависимости от количества анализируемых проб. Более того, настоятельно рекомендуется корпус инжектора тщательно очищать не реже одного раза в полгода метанолом, изопропанолом и гексаном[[7](#Reference_ref_8)]..

 10.6В обычных условиях можно ожидать значения выхода от 80 % до 120 %. Значения, выходящие за границы этого диапазона, часто указывают на ухудшение качества добавочного раствора ([5.3.3.4](#Section_sec_5.3.3.4)) или раствора внутреннего стандарта ([5.3.3.5](#Section_sec_5.3.3.5)). Другие причины зачастую возникают из-за непоследовательности в ходе подготовки проб, например, различий в условиях переэтерификации калибровочной и испытуемой серий.

**11 Точность**

**11.1 Общие положения**

Этот метод был оценен в международном совместном исследовании, организованном ISO и AOCS, проведенном с февраля по май 2020 г. в соответствии с ISO 5725-5. Анализ выбросов был проведен в соответствии с критерием Кохрана (внутрилабораторная дисперсия) и критерием Граббса (межлабораторная дисперсия). Исследование включило восемь различных масел и жиров растительного происхождения (см. Таблицы Б.1 – Б.3).

**11.2 Повторяемость**

Расхождение между двумя независимыми единичными результатами испытаний, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, использующим одно и то же оборудование в один и тот же день, не превысит 12 % RSD (2-МХПД), 9 % (3-МХПД) или 11 % (глицидол).

**11.3 Воспроизводимость в интервале нескольких дней**

Расхождение между двумя независимыми единичными результатами испытаний, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, использующим одно и то же оборудование в течение короткого промежутка времени (например, пять дней), не должно превышать 27 % (2-МХПД), 15 % (3-МХПД) или 38 % (глицидол)

**Приложение А**

**(****обязательное)**

**Вспомогательные таблицы**

**Таблица A.1 — Схема построения калибровочной кривой для SS-2-МХПД, PP-3-МХПД и Gly-S**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|   | **Калибр. раствор. (**[**5.3.3.1**](#Section_sec_5.3.3.1) **-** [**5.3.3.3**](#Section_sec_5.3.3.3)**)** | **Толуол (**[**5.4.4**](#Section_sec_5.4.4)**)** | **tBME (**[**5.4.5**](#Section_sec_5.4.5)**)** | **2-МХПД**мкг | **3-МХПД**мкг | **Gly**мкг | **Р-р внутр. стандарта (**[**5.3.3.5**](#Section_sec_5.3.3.5)**)** | **3-МХПД-13C3**мкг | **Gly-d5**мкг |
| Кал 1 | — | 100 мкл | 200 мкл | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 2 | Кал III ([5.3.3.3](#Section_sec_5.3.3.3))20 мкл | 80 мкл | 200 мкл | 0,003 | 0,003 | 0,003 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 3 | Кал III ([5.3.3.3](#Section_sec_5.3.3.3))50 мкл | 50 мкл | 200 мкл | 0,007 | 0,008 | 0,008 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 4 | Кал III ([5.3.3.3](#Section_sec_5.3.3.3))100 мкл | — | 200 мкл | 0,014 | 0,016 | 0,016 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 5 | Кал II ([5.3.3.2](#Section_sec_5.3.3.2))20 мкл | 80 мкл | 200 мкл | 0,057 | 0,063 | 0,063 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 6 | Кал II ([5.3.3.2](#Section_sec_5.3.3.2))70 мкл | 30 мкл | 200 мкл | 0,202 | 0,221 | 0,219 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 7 | Кал II ([5.3.3.2](#Section_sec_5.3.3.2))100 мкл | — | 200 мкл | 0,289 | 0,316 | 0,313 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 8 | Кал I ([5.3.3.1](#Section_sec_5.3.3.1))60 мкл | 40 мкл | 200 мкл | 0,433 | 0,474 | 0,470 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 9 | Кал I ([5.3.3.1](#Section_sec_5.3.3.1))75 мкл | 25 мкл | 200 мкл | 0,541 | 0,593 | 0,587 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| Кал 10 | Кал I ([5.3.3.1](#Section_sec_5.3.3.1))100 мкл | — | 200 мкл | 0,722 | 0,790 | 0,783 | 100 мкл | 0,154 | 0,092 |
| П р и м е ч а н и я1 Все пробы приготовлены с использованием от 100 мг до 110 мг контрольного масла ([5.4.11](#Section_sec_5.4.11)).2 Для калибровочных проб чистый толуол, добавленный на этапе [8.1.2](#Section_sec_8.1.2), заменяют калибровочным раствором I, II или III согласно этой таблице. Если количество калибровочного раствора не равно 100 мкл, разница дополняется чистым толуолом в соответствии с этой таблицей. |

**Таблица A.2 — Временная схема параллельного расщепления эфиров для серии из 20 проб для этапов** [**8.1.5**](#Section_sec_8.1.5) **и** [**8.1.6**](#Section_sec_8.1.6)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Проба** | **Добавление метоксида натрия (**[**8.1.5**](#Section_sec_8.1.5)**)****мин** | **Добавление подкисленного раствора NaBr (**[**8.1.6**](#Section_sec_8.1.6)**)****мин** |
| 1 | 00:00 | 12:00 |
| 2 | 00:30 | 12:30 |
| 3 | 01:00 | 13:00 |
| 4 | 01:30 | 13:30 |
| 5 | 02:00 | 14:00 |
| 6 | 02:30 | 14:30 |
| 7 | 03:00 | 15:00 |
| 8 | 03:30 | 15:30 |
| 9 | 04:00 | 16:00 |
| 10 | 04:30 | 16:30 |
| 11 | 05:00 | 17:00 |
| 12 | 05:30 | 17:30 |
| 13 | 06:00 | 18:00 |
| 14 | 06:30 | 18:30 |
| 15 | 07:00 | 19:00 |
| 16 | 07:30 | 19:30 |
| 17 | 08:00 | 20:00 |
| 18 | 08:30 | 20:30 |
| 19 | 09:00 | 21:00 |
| 20 | 09:30 | 21:30 |
| Временной интервал между пробами является чисто ориентировочным и может регулироваться на усмотрение пользователя, при условии, что для каждой отдельной пробы должно строго соблюдаться общее время реакции 12:00 мин. |

**Приложение Б****(справочное)

Статистические результаты совместного исследования, проведенного ИСО**

**Таблица Б.1 — Статистические результаты для сложного эфира 3-МХПД в мг/кг (в пересчете на свободный 3-МХПД)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Сложный эфир 3-МХПД**  | **S4****Соевое масло** | **S5****Пальмовое масло** | **S6****Рапсовое масло** | **S7****Кокосовое масло** | **S8****Пальмовый стеарин, Dfr.** | **S9****Пальмовый олеин, Dfr.** | **S10****Кукурузное масло** | **S11****Рафинированное подсолнечное масло** |
| **Описание** | **Обозначение** |
| Число лабораторий после исключения выбросов | *p* | 17 | 17 | 17 | 16 | 15 | 15 | 16 | 17 |
| Общее среднее | *M* | 0,458 | 1,376 | 0,271 | 0,352 | 0,352 | 1,420 | 0,242 | 0,137 |
| Стандартное отклонение повторяемости | *sr* | 0,013 | 0,075 | 0,013 | 0,021 | 0,031 | 0,042 | 0,009 | 0,010 |
| Относительное стандартное отклонение | *CV,r* (*sr* /*M*, %) | 3 % | 5 % | 5 % | 6 % | 9 % | 3 % | 4 % | 7 % |
| Предел повторяемости | *r* | 0,036 | 0,208 | 0,036 | 0,059 | 0,085 | 0,117 | 0,026 | 0,027 |
| Стандартное отклонение воспроизводимости | *SR* | 0,035 | 0,108 | 0,031 | 0,033 | 0,044 | 0,137 | 0,031 | 0,021 |
| Относительное стандартное отклонение  | *CV,R* (*SR* /*M*, %) | 8 % | 8 % | 11 % | 9 % | 13 % | 10 % | 13 % | 15 % |
| Предел воспроизводимости | *R* | 0,098 | 0,300 | 0,086 | 0,091 | 0,123 | 0,378 | 0,086 | 0,058 |
| Коэффициент Хорвитца (HorRat)  |   | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,5 | 0,7 | 0,6 | 0,7 |
| ОбозначениеDfr = двойного фракционирования |

**Таблица Б.2 — Статистические результаты для сложного эфира 2-МХПД в мг/кг (в пересчете на свободный 2-МХПД)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Сложный эфир 2-МХПД**  | **S4****Соевое масло** | **S5****Пальмовое масло** | **S6****Рапсовое масло** | **S7****Кокосовое масло** | **S8****Пальмовый стеарин, Dfr.** | **S9****Пальмовый олеин, Dfr.** | **S10****Кукурузное масло** | **S11****Рафиниро-ванное подсолнечное масло** |
| **Описание** | **Обозначение** |
| Число лабораторий после исключения выбросов | *p* | 17 | 16 | 17 | 16 | 15 | 15 | 17 | 17 |
| Общее среднее | *M* | 0,240 | 0,711 | 0,135 | 0,149 | 0,255 | 0,765 | 0,116 | 0,084 |
| Стандартное отклонение повторяемости | *sr* | 0,013 | 0,029 | 0,009 | 0,015 | 0,031 | 0,024 | 0,013 | 0,009 |
| Относительное стандартное отклонение | *CV,r* (*sr* /*M*, %) | 6 % | 4 % | 6 % | 10 % | 12 % | 3 % | 11 % | 11 % |
| Предел повторяемости | *r* | 0,037 | 0,081 | 0,024 | 0,042 | 0,086 | 0,067 | 0,036 | 0,024 |
| Стандартное отклонение воспроизводимости | *SR* | 0,040 | 0,052 | 0,030 | 0,035 | 0,051 | 0,073 | 0,031 | 0,029 |
| Относительное стандартное отклонение  | *CV,R* (*SR* /*M*, %) | 17 % | 7 % | 22 % | 23 % | 20 % | 10 % | 27 % | 34 % |
| Предел воспроизводимости | *R* | 0,110 | 0,144 | 0,084 | 0,097 | 0,140 | 0,202 | 0,086 | 0,080 |
| Коэффициент Хорвитца (HorRat)  |   | 0,8 | 0,4 | 1,0 | 1,1 | 1,0 | 0,6 | 1,2 | 1,5 |
| ОбозначениеDfr = двойного фракционирования |

Таблица Б.3 — Статистические результаты для глицидилового эфира в мг/кг (в пересчете на свободный глицидол)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Глицидиловый эфир** | **S4****Соевое масло** | **S5****Пальмовое масло** | **S6****Рапсовое масло** | **S7****Кокосовое масло** | **S8****Пальмовый стеарин, Dfr.** | **S9****Пальмовый олеин, Dfr.** | **S10****Кукурузное масло** | **S11****Рафинированное подсолнечное масло** |
| **Описание** | **Обозначение** |
| Число лабораторий после исключения выбросов | *p* | 14 | 14 | 15 | 16 | 15 | 14 | 15 | 16 |
| Общее среднее | *M* | **0,224** | **0,253** | **0,108** | **0,133** | **0,877** | **0,365** | **0,361** | **0,214** |
| Стандартное отклонение повторяемости | *sr* | 0,007 | 0,012 | 0,007 | 0,009 | 0,038 | 0,040 | 0,013 | 0,013 |
| Относительное стандартное отклонение | *CV,r* (*sr* /*M*, %) | 3 % | 5 % | 7 % | 7 % | 4 % | 11 % | 4 % | 6 % |
| Предел повторяемости | *r* | 0,018 | 0,032 | 0,020 | 0,025 | 0,104 | 0,110 | 0,037 | 0,035 |
| Стандартное отклонение воспроизводимости | *SR* | 0,046 | 0,065 | 0,056 | 0,050 | 0,170 | 0,086 | 0,068 | 0,035 |
| Относительное стандартное отклонение  | *CV,R* (*SR* /*M*, %) | 20 % | 26 % | 52 % | 38 % | 19 % | 24 % | 19 % | 16 % |
| Предел воспроизводимости | *R* | 0,127 | 0,180 | 0,154 | 0,138 | 0,471 | 0,239 | 0,188 | 0,096 |
| Коэффициент Хорвитца (HorRat)  |   | 1,0 | 1,3 | 2,3 | 1,7 | 1,2 | 1,3 | 1,0 | 0,8 |
| ОбозначениеDfr = двойного фракционирования |

Приложение В
(справочное)

Хроматограммы

Обозначение

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Хроматограмма** | **Время удерживания** | **Состав** |
| **A**: Калибровочная проба 1 |   | Контрольная проба |
| **B**: Калибровочная проба 2 | 7,04 | Эквивалентно 30 мкг/кг 3-МХПД в масле |

Рисунок C.1 — Калибровочные хроматограммы 3-МХПД

Обозначение

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Хроматограмма** | **Время удерживания** | **Состав** |
| **A**: Калибровочная проба 1 |   | Контрольная проба |
| **B**: Калибровочная проба 2 | 7,18 | Эквивалентно 30 мкг/кг 2-МХПД в масле |

Рисунок C.2 — Калибровочные хроматограммы 2-МХПД

Обозначение

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Хроматограмма** | **Время удерживания** | **Состав** |
| **A**: Калибровочная проба 1 |   | Контрольная проба |
| **B**: Калибровочная проба 2 | 7,43 | Эквивалентно 30 мкг/кг глицидола в масле |

Рисунок C.3 — Калибровочные хроматограммы 3-МБПД

Приборы и колонка, использованные для приведенных в качестве примера хроматограмм[[1]](#footnote-1):

|  |  |
| --- | --- |
| Газовый хроматограф: | Thermo Scientific Trace 1310 + дозатор SSL-Backflush  |
| Масс-спектрометр: | Thermo Scientific TSQ 8000 Evo |
| Программное обеспечение для хроматографии: | Tracefinder CDS |
| Хроматографическая колонка: | Restek Rxi-5 Sil MS (20 м длина × 0,18 мм внутр. диам. × 0,18 мкм толщина пленки) с предколонкой: (2 м длина × 0,53 мм внутр. диам × 0,10 мкм толщина пленки)  |

Остальные параметры приборов описаны в [8.3](#Section_sec_8.3).

**Приложение ДА**

(справочное)

**Сведения о соответствии ссылочного международного стандарта межгосударственному стандарту**

Таблица ДА.1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Обозначение ссылочногомеждународного стандарта | Степеньсоответствия | Обозначение и наименование соответствующею межгосударственногостандарта |
| ISO 3696 | IDT | ГОСТ ISO 3696—2013 «Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля»\* |
| \* П р и м е ч а н и е — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта:IDT — идентичный стандарт. |

Библиография

[1] ISO 5555, *Жиры и масла животные и растительные. Отбор проб*

[2] ISO 5725-5, *Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 5. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода*

[3] ISO 18363 (все части), *Жиры и масла животные и растительные. Определение сложных эфиров хлопропандиолов (МХПД) и глицидола методом ГХ/МС*

[4] 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*

[5] 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*

[6] 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)*

[7] Zwagerman R., Overman P. Optimized Analysis of *MCPD* - and Glycidyl Esters in Edible Oils and Fats Using Fast Alkaline Transesterification and 13C-Correction for Glycidol Overestimation: Validation Including Interlaboratory Comparison, *Eur. J. Lipid. Sci. Technol*, 2019, 121, 1800395

[8] Zwagerman R., Overman P. A Novel Method For The Automatic Sample Preparation And Analysis of 3- *MCPD* -, 2- *MCPD* -, and glycidylesters In Edible Oils And Fats. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.* 2016, 118, pp. 997–1006

[9] Deutsche Gesellschaft fur Fettwissenschaft (DGF). DGF Standard Method C-VI 18 (10) Fatty-acid bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-МХПД) 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

 **\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

УДК 543.062 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 |

1. Приборы и колонка являются примерами подходящей имеющейся в продаже продукции от поставщиков. Эта информация дается для удобства пользователей данного документа и не указывает на предпочтение со стороны ISO в отношении данной продукции. [↑](#footnote-ref-1)