МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 31665— 2012

МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ И ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ

Получение метиловых эфиров жирных кислот

(ISO 12966-2:2011, NEQ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт жиров» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИЖ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 20 июля 2012 г. № 50-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 июня 2013 г. № 350-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31665—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2014 г.

5 Настоящий стандарт соответствует международному стандарту ISO 12966-2:2011 Animal and vegetable fats and oils — Preparation of methyl esters of fatty acids (Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме).

Степень соответствия — неэквивалентная (NEQ)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2013

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения национального органа Российской Федерации по стандартизации

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Условия проведения работ 2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы 2
5 Получение метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот из триглицеридов переэтерификацией с метанольным (этанольным) раствором метилата (этилата) натрия 3
6 Получение метиловых эфиров жирных кислот из триглицеридов переэтерификацией с метанольным раствором гидроокиси калия 4
7 Получение метиловых эфиров жирных кислот омылением триглицеридов с последующей этерификацией в кислой среде 5
8 Особые требования 6
9 Хранение метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот 6
10 Требования безопасности при проведении работ 6
11 Требования к квалификации оператора 6

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ И ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ

Получение метиловых эфиров жирных кислот

Vegetable oils and animal fats.
Preparation of methyl esters of fatty acids

Дата введения — 2014—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на растительные масла и животные жиры и устанавливает методы получения метиловых эфиров жирных кислот, используемых для последующего анализа методами газовой хроматографии, тонкослойной хроматографии, инфракрасной спектрометрии и других аналитических целей.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 976—81 Маргарин, жиры для кулинарии, кондитерской и хлебопекарной промышленности. Правила приемки и методы испытаний

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3273—75 Натрий металлический технический. Технические условия

ГОСТ 4166—76 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4919.1—77 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов индикаторов

ГОСТ 5471—83 Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995—77 Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 8285—91 Жиры животные топленые. Правила приемки и методы испытания

ГОСТ 8677—76 Кальция оксид. Технические условия

ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 24363—80 Калия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

Издание официальное

ГОСТ 25828—83 Гептан нормальный эталонный. Технические условия

ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 29228—91 (ИСО 835-2—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные без установленного времени ожидания

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, на затрагивающей эту ссылку.

3 Условия проведения работ

3.1 При подготовке и выполнении измерений в помещении лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды, °С . . . . . от 15 до 30;
- относительная влажность воздуха, % . . . . . не более 80;
- напряжение питающей сети, В . . . . . 220 ± 15;
- частота переменного тока, Гц . . . . . 50 ± 2.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы

Весы лабораторные по ГОСТ 24104.
Колба 2–25–2 по ГОСТ 1770.
Колба 2–100–1 по ГОСТ 1770.
Колба К-1-1000–29/32 ТС по ГОСТ 25336.
Колба П-1-100-29/32 ТХС по ГОСТ 25336.
Колба КГУ-2-1–100–14/23 ТС по ГОСТ 25336.
Колба КН-1–100-14/23 ТХС по ГОСТ 25336.
Колба 4–50–2 и колба 4–100–2 по ГОСТ 1770.
Высокоскоростная мешалка, оснащенная нагревателем (например, магнитная мешалка).
Впускная трубка для азота.
Холодильник ХШ-1-400-29/32 по ГОСТ 25336.
Кипелки обезжиренные.
Воронка ВД-1(2)-100 ХС по ГОСТ 25336.
Воронка ВК-100 ХС по ГОСТ 25336.
Стаканчик для взвешивания ВС-19/9 по ГОСТ 25336.
Перегонный аппарат, состоящий из:

- колбы К-1–500-29/32 по ГОСТ 25336;
- насадки Н-1-29/32-14/23 ТС по ГОСТ 25336;
- холодильника ХПТ-1-400-14/23 ТС по ГОСТ 25336;
- аллонжа АИО-29/32–14/23–60 или АПК-29/32 по ГОСТ 25336.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с интервалом температур 0 °С—100 °С и ценой деления 0,5 °С.
Баня водяная.
Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.
Электромагнитная мешалка.
Пробирка П-4–10(20)–14/23 ХС по ГОСТ 25336.
Цилиндр 1-10 по ГОСТ 1770.

Цилиндр 1–250 или 3–250 по ГОСТ 1770.
Пипетка 1(2,3)–1(2)–1(2)-1; 1(2,3)–1(2) по ГОСТ 29227, ГОСТ 29228.
Пипетка 1-1-1-2 по ГОСТ 29227.
Воронка лабораторная В-25–38 или В-36–50 ХС по ГОСТ 25336.
Шпатель.
Секундомер.
Метанол-яд по ГОСТ 6995, х. ч., с последующим получением абсолютного метилового спирта.
Кальция окись по ГОСТ 8677, ч. д. а.
Калия гидроокись, по ГОСТ 24363, ч. д. а.
Гептан для хроматографии по ГОСТ 25828.
Гексан для хроматографии по действующему документу.
Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300, абсолютный.
Натрий металлический по ГОСТ 3273.
Натрия метилат.
Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, х. ч.
Натрий хлористый по ГОСТ 4233.
Азот газообразный по ГОСТ 9293 ос. ч.
Кислота серная по ГОСТ 4204, плотностью 1,84.
Кислота соляная по ГОСТ 3118, плотностью 1,18.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
Метиловый красный, раствор массовой долей 0,1 % в 60 %-ном (объемная доля) этиловом спирте или метиловый оранжевый, приготовленный по ГОСТ 4919.1.
Метилпентадеканоат, выпускаемый промышленностью, или пентадекановая кислота с содержанием основного компонента не менее 98 %, метилированная по 7.3.
Допускается применение другой аппаратуры и реактивов, по качеству и техническим характеристикам не уступающих перечисленным выше.

5 Получение метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот из триглицеридов переэтерификацией с метанольным (этанольным) раствором метилата (этилата) натрия

Метод применим для растительных масел, животных жиров и их смесей с кислотным числом не более 2,0.

5.1 Для контроля продукции при экспортно-импортных поставках применяют только метиловые эфиры жирных кислот. Во всех остальных случаях, а также для исследовательских целей применяют метиловые или этиловые эфиры.

5.2 Приготовление растворов

5.2.1 Приготовление абсолютного метанола (этанола)

В колбе вместимостью 500 см^3 взвешивают (30 ± 1) г окиси кальция, добавляют 250 см^3 метанола (этанола) и кипятят с обратным холодильником типа XIII в течение 6—8 ч. Затем метанол перегоняют при температуре 64,7 °С (этанол — при температуре 78,3 °С).

5.2.2 Приготовление раствора метилата натрия в метаноле (этилата натрия в этаноле) молярной концентрации 2 моль/дм^3

Взвешивают 2,7 г метилата натрия (3,4 г этилата натрия) или 1,15 г металлического натрия в стаканчике для взвешивания с точностью до 0,01 г.

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 наливают 10 см^3 — 12 см^3 абсолютного метанола (абсолютного этанола) и растворяют в нем метилат (этилат) натрия или нарезанный маленькими кусочками металлический натрий, который добавляют небольшими порциями. Раствор перемешивают, охлаждают до комнатной температуры и доливают абсолютным метанолом (абсолютным этанолом) до метки. Раствор хранят в холодильнике.

5.3 Приготовление метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот

5.3.1 Отбор проб:

- растительного масла — по ГОСТ 5471;
- жиров животных топленых — по ГОСТ 8285;

- маргаринов, жиров для кулинарии, кондитерской и хлебопекарной промышленности, спредов и топленых смесей — по ГОСТ 976;

- масла и пасты масляной из коровьего молока — по ГОСТ 26809.

5.3.2 Лабораторную пробу жидкого растительного масла или предварительно расплавленного твердого жира тщательно перемешивают.

Из лабораторной пробы в пробирку отбирают (0,1 ± 0,02) г продукта и растворяют в 2,0 см^3 гептана (гексана).

5.3.3 Лабораторную пробу маргарина, спреда, масла из коровьего молока или масляной пасты массой (100 ± 5) г в стеклянном стаканчике помещают в сушильный шкаф при температуре 40 °С—45 °С и выдерживают до полного расслоения. Верхний жировой слой сливают, фильтруют через бумажный фильтр и хорошо перемешивают. Взвешивают (0,1 ± 0,02) г жировой фазы продукта в пробирке и растворяют в 2,0 см^3 гептана (гексана).

5.3.4 В полученный раствор пипеткой добавляют 0,1 см^3 раствора метилата натрия в метаноле (этилата натрия в этаноле) молярной концентрации 2 моль/дм^3, закрывают пробирку пробкой. После интенсивного перемешивания в течение 2 мин реакционную смесь отстаивают 5 мин и верхний слой, содержащий метиловые (этиловые) эфиры, фильтруют через бумажный фильтр. Полученный раствор готов к употреблению.

При наличии в смеси метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот с числом атомов углерода в цепи менее 8 фильтрацию заменяют центрифугированием. Полученный раствор метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот должен быть использован для анализа непосредственно после приготовления.

6 Получение метиловых эфиров жирных кислот из триглицеридов переэтерификацией с метанольным раствором гидроокиси калия

Метод применим для растительных масел, животных жиров и их смесей с кислотным числом не более 2,0.

6.1 Приготовление растворов

6.1.1 Приготовление абсолютного метанола — по 5.2.1.

6.1.2 Приготовление раствора гидроокиси калия в метаноле молярной концентрации 2 моль/дм^3

В мерной колбе вместимостью 100 см^3 взвешивают 13,1 г гидроокиси калия и растворяют в 80 см^3 метанола с помощью магнитной мешалки. Охлаждают до комнатной температуры и доводят метанолом до метки.

6.1.3 Приготовление раствора сравнения метилпентадеканоата в гептане (гексане)

В мерной колбе вместимостью 50 см^3 взвешивают (0,5 ± 0,05) г с записью результата до 0,001 г метилпентадеканоата, растворяют в небольшом количестве гептана (или гексана) и содержимое колбы доводят до метки гептаном (или гексаном).

6.2 Приготовление метиловых эфиров жирных кислот

6.2.1 Отбор проб — по 5.3.1.

6.2.2 Подготовка пробы — по 5.3.2 и 5.3.3.

6.2.3 В полученный раствор пипеткой добавляют 0,1 см^3 метанольного раствора гидроокиси калия, закрывают пробирку пробкой и интенсивно перемешивают в течение 2 мин. Затем в течение 5 мин отстаивают полученный раствор для отделения глицерина и верхний слой, содержащий метиловые эфиры, фильтруют через бумажный фильтр. Полученный раствор готов к употреблению.

При наличии в смеси метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот с числом атомов углерода в цепи менее 8 фильтрацию заменяют центрифугированием. Полученный раствор метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот должен быть использован для анализа непосредственно после приготовления.

6.2.4 При необходимости работы с внутренним стандартом пробу продукта массой (0,5 ± 0,05) взвешивают с записью результата до 0,001 г, растворяют в 9 см^3 гептана (или гексана), добавляют 1 см^3 раствора сравнения по 6.1.3. В полученный раствор пипеткой добавляют 0,5 см^3 раствора гидроокиси калия и далее выполняют процедуру по 6.2.3.

7 Получение метиловых эфиров жирных кислот омылением триглицеридов с последующей этерификацией в кислой среде

Метод применим для растительных масел, животных жиров и их смесей с кислотным числом более 2 и для смесей жирных кислот. Метод неприменим при наличии в продукте триглицеридов, содержащих жирные кислоты с числом атомов углерода в цепи менее 8.

7.1 Приготовление растворов

7.1.1 Приготовление абсолютного метанола — по 5.2.1.

7.1.2 Приготовление раствора метилата натрия в метаноле массовой долей 1 %

1 г металлического натрия растворяют в 100 см^3 метанола.

7.1.3 Приготовление метанольного раствора хлористого водорода молярной концентрации 1 моль/дм^3

В колбе с двумя горловинами вместимостью 100 см^3, снабженной капельной воронкой, взвешивают 50 г хлористого натрия, смачивают соляной кислотой и прибавляют по каплям из делительной воронки концентрированную серную кислоту так, чтобы за 20 мин было израсходовано 20 см^3 серной кислоты.

Образующийся газообразный хлористый водород через промывную склянку, наполненную концентрированной серной кислотой, и через капилляр вводят в колбу с двумя горловинами, в которую помещено 100 см^3 метилового спирта. Насыщение метилового спирта хлористым водородом проводят до увеличения первоначальной массы на 4 %. Для получения большего количества реактива дозировку реагентов соответственно пропорционально увеличивают. Полученный реактив хранят 2—3 мес в плотно закрытой стеклянной посуде.

Вместо метанольного раствора хлористого водорода можно использовать метанольный раствор серной кислоты при дальнейшей этерификации не менее 20 мин. В связи с тем, что в процессе реакции выделяется сульфат натрия, затрудняющий нормальное кипение, реакцию проводят при постоянном перемешивании магнитной мешалкой.

7.2 Приготовление метиловых эфиров жирных кислот

7.2.1 Отбор проб — по 5.3.1.

7.2.2 Подготовка пробы — по 5.3.2 и 5.3.3.

7.2.3 В колбе вместимостью 100 см^3 взвешивают пробу продукта массой 1 г и добавляют 10 см^3 раствора метилата натрия в метаноле. Присоединяют к колбе обратный холодильник и нагревают до кипения на водяной бане. Раствор должен стать прозрачным. Для масел, растворимых в метаноле (например, касторового), прозрачность не является критерием для оценки законченности реакции. Реакция протекает не более 15 мин. Затем в колбу добавляют 13 см^3 метанольного раствора хлористого водорода и кипятят в течение 10 мин, после чего колбу охлаждают под струей воды и добавляют в нее 25 см^3 дистиллированной воды. Содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3 и экстрагируют гептаном (гексаном) два раза по 10 см^3. Объединенные экстракты промывают дистиллированной водой порциями по 7 см^3 до полного удаления кислоты по метиловому оранжевому (или метиловому красному). Экстракт сушат фильтрованием через слой безводного сульфата натрия и используют для испытаний.

В присутствии жирных кислот, содержащих более двух двойных связей, воздух, находящийся в метанольном растворе и в колбе, рекомендуется удалить током азота. Для этого азот пропускают через раствор в течение 1—2 мин и поддерживают ток азота в верхней части обратного холодильника во время последующего омыления.

В случае, если в испытуемой пробе можно предположить наличие значительного количества неомыляемых веществ, раствор, полученный после омыления метилатом натрия, разбавляют водой вдвое и экстрагируют неомыляемые вещества этиловым эфиром, гексаном или петролейным эфиром, подкисляют и отделяют жирные кислоты. Затем получают метиловые эфиры по 7.3.

7.3 Приготовление метиловых эфиров жирных кислот из смесей жирных кислот

В испытуемых пробах, состоящих из смесей жирных кислот, этап омыления не требуется.

В колбе вместимостью 100 см^3 взвешивают пробу жирных кислот массой (1,0 $\pm$ 0,1) г, добавляют 13 см^3 метанольного раствора хлористого водорода и кипятят в течение 10 мин, после чего колбу охлаждают под струей воды и добавляют в нее 25 см^3 дистиллированной воды. Содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3 и экстрагируют гептаном (гексаном) два раза по 10 см^3. Объединенные экстракты промывают дистиллированной водой порциями по 7 см^3 до полного удаления кислоты по метиловому оранжевому (или метиловому красному). Экстракт сушат фильтрованием через слой безводного сульфата натрия и используют для испытаний.

Для целей инфракрасной спектрометрии полностью отгоняют растворитель.

В присутствии жирных кислот, содержащих более двух двойных связей, воздух, находящийся в метанольном растворе и колбе, рекомендуется удалить током азота. Для этого азот пропускают через раствор в течение 1—2 мин и поддерживают ток азота в верхней части обратного холодильника.

8 Особые требования

8.1 При работе с новой партией реагентов и растворителей необходимо проводить контрольное получение метилового эфира чистой стеариновой кислоты. Если при последующем его хроматографировании появятся посторонние «пики», от данного реагента следует отказаться.

8.2 При отсутствии нужного количества лабораторной пробы масса анализируемой пробы может быть уменьшена до 10 мг и менее, с пропорциональным уменьшением количества реагентов и размеров лабораторной посуды.

9 Хранение метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот

Готовые гептановые (гексановые) растворы метиловых эфиров жирных кислот хранят в холодильнике не более 2 сут.

При длительном хранении растворов их необходимо предохранить путем добавления в раствор антиокислителя концентрацией, не мешающей дальнейшему ходу испытаний, например, 0,05 г/дм^3 раствора ВНТ (2,6-ди-третбутил-4-метилфенол).

Смеси метиловых эфиров, содержащие эфиры масляной кислоты, хранят только в герметичных ампулах. Следует принимать меры предосторожности во избежание потерь метиловых эфиров во время заполнения и запаивания ампул.

10 Требования безопасности при проведении работ

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

11 Требования к квалификации оператора

Работы должен выполнять специалист, имеющий высшее или среднее специальное образование и освоивший настоящий метод.

УДК 664.34.001.4:006.354 МКС 67.200.10 Н69

Ключевые слова: масла растительные, жиры животные, метиловые эфиры, условия получения

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 02.12.2013. Подписано в печать 16.12.2013. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,10. Тираж 123 экз. Зак. 1483.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.