ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54055— 2010

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ЯИЦ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

Метод определения жирно-кислотного состава

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2012

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом птицеперерабатывающей промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПП Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. № 673-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 2012

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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ЯИЦ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

Метод определения жирно-кислотного состава

Food eggs and foodstuffs of processed poultry eggs.
Method for determination of fatty acid composition

Дата введения — 2012—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые яйца и пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы (жидкие, концентрированные и сухие — яичная масса, яичный меланж, яичный желток) (далее — продукты) и устанавливает газохроматографический метод определения жирно-кислотного состава — массовой доли индивидуальных жирных кислот.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р 51483—99 Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме

ГОСТ Р 52121—2003 Яйца куриные пищевые. Технические условия

ГОСТ Р 52943—2008 Птицеперерабатывающая промышленность. Продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы пищевые. Термины и определения

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 53404—2009 Яйца пищевые (индюшиные, цесариные, перепелиные, страусиновые). Технические условия

ГОСТ Р 53669—2009 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы отбора проб и органолептического анализа

ГОСТ Р 53746—2009 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы физико-химического анализа

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.010—76 Система стандартов безопасности труда. Взрывобезопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3022—80 Водород технический. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия
ГОСТ 3956—76 Силикагель технический. Технические условия
ГОСТ 4166—76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия
ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия
ГОСТ 5829—71 Реактивы. Ацетил хлористый. Технические условия
ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 6995—77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия
ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия
ГОСТ 9293—74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия
ГОСТ 11109—90 Марля бытовая хлопчатобумажная. Общие технические условия
ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия
ГОСТ 17433—80 Промышленная чистота. Сжатый воздух. Классы загрязненности
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 26703—93 Хроматографы аналитические газовые. Общие технические условия и методы испытаний
ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний
ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой
ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. 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, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 52943.

4 Метрологические характеристики метода

4.1 Измерение массовой доли индивидуальных жирных кислот по отношению к сумме всех жирных кислот (метод внутренней нормализации)

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности 0,95 приведены в таблице 1.

Таблица 1

Диапазон значений измеряемой массовой доли индивидуальных жирных кислот по отношению к сумме всех жирных кислот, %	Границы абсолютной погрешности $\pm \Delta$, %	Предел абсолютной повторяемости r, %	Критическая разность ($n_1 = n_2 = 2$) $CD_{0,95}$, %
Св. 0,2 до 1,0 включ.	0,2	0,1	0,3
» 1,0 » 5,0 »	0,4	0,2	0,5
» 5,0 » 20,0 »	0,5	0,3	0,7
» 20,0	0,9	0,5	1,7

4.2 Измерение массовой доли индивидуальных жирных кислот в липидах из экстрагированных продуктов (метод внутреннего стандарта)

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности 0,95 приведены в таблице 2.

Таблица 2

Диапазон значений измеряемой массовой доли индивидуальных жирных кислот в липидах, экстрагированных из яиц и яичных продуктов, %	Границы абсолютной погрешности ± Δ, %	Предел абсолютной повторяемости r, %	Критическая разность ($n_1 = n_2 = 2$) $CD_{0,95}$, %
Св. 0,3 до 2,0 включ.	0,3	0,2	0,4
» 2,0 » 5,0 »	0,5	0,3	0,7
» 5,0 » 20,0 »	0,9	0,5	1,3
» 20,0	1,5	0,9	2,2

5 Сущность метода

Сущность метода состоит в экстракции липидов из продуктов, получении метиловых эфиров жирных кислот переэтерификацией экстрагированных липидов с помощью кислотного катализатора (хлористый водород) в присутствии избытка метилового спирта, разделении смеси полученных метиловых эфиров методом капиллярной газовой хроматографии и измерении площадей хроматографических пиков.

Массовую долю индивидуальной жирной кислоты относительно суммы масс всех жирных кислот определяют отношением площади пика метилового эфира кислоты к сумме площадей идентифицированных хроматографических пиков всех метиловых эфиров жирных кислот (метод внутренней нормализации), массовую долю содержания индивидуальной жирной кислоты в липидах яичных продуктов определяют отношением площади пика метилового эфира кислоты к площади пика внутреннего стандарта (метод внутреннего стандарта).

6 Средства измерений, оборудование, материалы и реактивы

Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором (ПИД), пределом детектирования не более $5 \cdot 10^{-12}$ г/с по ГОСТ 26703, оснащенный инжектором для капиллярных колонок с делением потока и управляющим вычислительным комплексом с программным обеспечением, позволяющим проводить разметку и определение площадей хроматографических пиков.

Капиллярная хроматографическая колонка с неподвижной фазой из сшитого полиэтиленгликоля длиной 30 м, с внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной фазы 0,25 мкм или аналогичная колонка, обеспечивающая разделение пиков и продолжительность хроматографирования в соответствии с рисунком 1. Условия хроматографирования — в соответствии с 7.4.

Микрошприцы МШ-1 вместимостью 1 мм^3 или аналогичные.

Ротационный испаритель типа ИР-2.

Весы лабораторные по ГОСТ Р 53228 с пределом допускаемой погрешности взвешивания не более ± 0,0002 г.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919.

Баня водяная.

Термостат суховоздушный типа ТС-80М или жидкостный термостат, обеспечивающий поддержание заданной температуры при (60 ± 1) °С.

Термометр ртутный с диапазоном измерения температуры 0 °С — 100 °С и ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

Часы.

Сушильный шкаф.

Гомогенизатор или миксер.

Автоклав с фторопластовой реакционной камерой рабочим объемом 25 — 30 см^3 (например, аналитический автоклав — модель Т11 НПО «Анкон-АТ») или стеклянная виала вместимостью 25 — 35 см^3 с завинчивающейся крышкой и фторопластовой прокладкой.

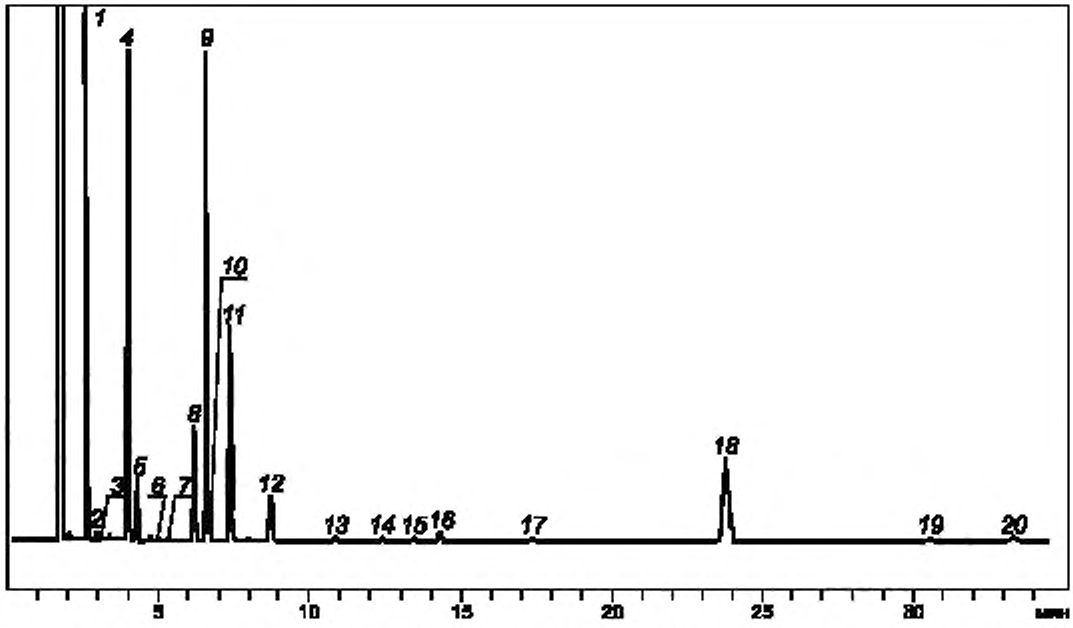
Колбы конические Кн-1-150-29/32 ТХС по ГОСТ 25336.

Колбы грушевидные Гр-100-14/23 ТХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 2-25-1 и 2-100-1 по ГОСТ 1770.

Воронки В-36-50 ХС и В-56-80 ХС по ГОСТ 25336.

Воронки делительные ВД-1-250 ХС или ВД-3-250 ХС по ГОСТ 25336.



1 — бутилокситолуол; *2* — С14:0; *3* — С14:1n5; *4* — С16:0; *5* — С16:1n7; *6* — С17:0; *7* — С17:1; *8* — С18:0; *9* — С18:1n9; *10* — С18:1n7; *11* — С18:2n6; *12* — С18:3n3; *13* — С20:0; *14* — С20:1n9; *15* — С20:3n6; *16* — С20:4n6; *17* — С20:5n3; *18* — С23:0 (внутренний стандарт), *19* — С22:5n3; *20* — С22:6n3

Рисунок 1 — Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот липидов куриного яйца (колонка Omegawax 320 (Supelco))

Пипетки 2-2-5, 2-2-25 или 2-2-20 по ГОСТ 29169.

Пипетки 1-1-1(2)-1 по ГОСТ 29227.

Пробирки П-2-5-14/23ХС, П-2-25-14/23 ХС по ГОСТ 1770 или П4-5-14/23, П4-25-14/23 по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-50 ХС и В-1-100 ХС по ГОСТ 25336.

Холодильник XIII-1-300-29/32 по ГОСТ 25336.

Цилиндры мерные 1-10-2, 1-50-1 и 2-100-1 по ГОСТ 1770.

Ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 9147.

Палочка стеклянная.

Стекловата.

Марля по ГОСТ 11109.

Воздух класса «0» по ГОСТ 17433. Допускается использовать компрессоры, обеспечивающие необходимые давление и чистоту воздуха согласно инструкции по эксплуатации хроматографа.

Азот газообразный по ГОСТ 9293, ос. ч.

Водород технический марки А по ГОСТ 3022 или электролизный водород от генератора водорода.

Гексан для хроматографии.

Ацетил хлористый (ацетилхлорид) по ГОСТ 5829, ч. д. а.

Метанол по ГОСТ 6995, х. ч.

Бутилокситолуол (2,6-ди-трет-бутил-4-метоксифенол), массовая доля основного вещества не менее 95 %.

Метиловый эфир трикозановой кислоты С23:0, массовая доля основного вещества не менее 99,0 %.

Раствор в гексане смеси метиловых эфиров жирных кислот (от С10 до С24) для идентификации хроматографических пиков [1], [2].

Толуол, ос. ч.

Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, х. ч.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч., водный раствор массовой долей 10 %.

Силикагель марки АСКГ по ГОСТ 3956.

Кислота соляная массовой долей не менее 35 % по ГОСТ 3118, ос. ч.

Эфир диэтиловый (эфир этиловый), ос. ч., безводный, содержащий менее 0,05 % этилового спирта.

Эфир петролейный перегнанный с температурой кипения не более 60 °С .

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а также материалов и реактивов, по качеству не ниже указанных.

7 Подготовка к проведению испытаний

7.1 Приготовление смеси для получения метиловых эфиров [раствор хлористого водорода (HCl) в метаноле массовой долей 5,6 %]

В высокую пробирку с пришлифованной пробкой вместимостью 25 $см^3$ вносят с помощью пипетки 5 $см^3$ метанола. Осторожно по каплям добавляют с помощью пипетки 0,5 $см^3$ ацетилхлорида с соблюдением мер предосторожности по 13.3 (при добавлении ацетилхлорида происходит бурная реакция с образованием брызг, поэтому необходимо использовать высокую пробирку). Перемешивают, закрывают пробкой и выдерживают перед использованием в течение 10 мин.

Смесь готовят непосредственно перед каждым испытанием.

7.2 Приготовление стандартного раствора метилового эфира трикозановой кислоты С23:0 массовой концентрацией 5 мг/$см^3$ (метод внутреннего стандарта)

В стакане вместимостью 50 $см^3$ взвешивают 250 мг метилового эфира трикозановой кислоты с записью результата взвешивания в миллиграммах до одного десятичного знака, добавляют 25 — 30 мг бутилокситолуола (антиокислитель) и растворяют метиловый эфир трикозановой кислоты и бутилокситолуол в 30 $см^3$ толуола (кристаллы метилового эфира трикозановой кислоты должны полностью раствориться, при необходимости стаканчик с содержимым можно подогреть до температуры 30 °С — 40 °С). Содержимое стакана количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$. Стакан три раза ополаскивают толуолом порциями по 3 $см^3$, которые добавляют в мерную колбу. Колбу выдерживают до достижения температуры раствора (20 ± 1) °С, доводят объем толуолом до метки, закрывают пробкой и перемешивают.

Срок хранения стандартного раствора — 1 мес в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С.

Перед использованием колбу выдерживают до достижения температуры раствора (20 ± 1) °С.

7.3 Приготовление раствора бутилокситолуола в толуоле (метод внутренней нормализации)

В стакан вместимостью 100 $см^3$ помещают 25 — 35 мг бутилокситолуола, добавляют с помощью мерного цилиндра 50 $см^3$ толуола и перемешивают до полного растворения бутилокситолуола. Раствор хранят при комнатной температуре в плотно закрытой стеклянной емкости не более 5 мес.

7.4 Приготовление воронки для фильтрования раствора метиловых эфиров жирных кислот

В нижнюю часть носика воронки диаметром 36 мм и высотой 50 мм по ГОСТ Р 25336 вставляют тампон из кусочка обезжиренной стекловаты, насыпают силикагель АСКГ до образования слоя высотой примерно 15 — 20 мм, сверху насыпают слой безводного сернокислого натрия так, чтобы он полностью заполнил носик воронки и нижнюю часть сужения воронки слоем высотой примерно 5 мм.

7.5 Подготовка газового хроматографа и капиллярной колонки

Подготовку хроматографа и капиллярной колонки (кондиционирование колонки) проводят в соответствии с инструкциями по эксплуатации. При работе с капиллярной колонкой Omegawax 320 устанавливают следующий режим работы хроматографа:

- температура детектора 260 °С;
- температура инжектора 250 °С;

- температура термостата колонки 200 °С;
- давление газа-носителя (азота) в испарителе 85 кПа;
- деление потока газа-носителя в испарителе 1 : 30;
- расходы водорода, воздуха и азота (поддув в детектор) устанавливают в соответствии с инструкцией к эксплуатации хроматографа или подбирают путем хроматографирования тестовых смесей метиловых эфиров для обеспечения максимальной чувствительности пламенно-ионизационного детектора.

Режимы хроматографа при работе с другими типами капиллярных колонок подбирают так, чтобы качество разделения и время регистрации хроматограмм было не хуже показанной на рисунке 1 хроматограммы.

Не реже одного раза в месяц, а также при замене реактивов проводят хроматографирование холостой пробы, приготовленной по 7.6, но без добавления липидов. На хроматограмме холостой пробы не должно быть посторонних пиков, кроме пиков бутилокситолуола и метилового эфира трикозановой кислоты (допускаются посторонние пики непосредственно рядом с пиком растворителя).

7.6 Отбор и подготовка проб

7.6.1 Отбор проб куриных яиц — по ГОСТ Р 52121, индюшиных, цесариных, перепелиных и страусиных — по ГОСТ Р 53404, яичных продуктов — по ГОСТ Р 53669.

7.6.2 Подготовка проб к испытанию

7.6.2.1 Яйца

В стакан вместимостью 500 см^3 осторожно разбивают пять — семь куриных или индюшиных яиц или 10 — 12 перепелиных или цесариных яиц, или два-три страусиных яйца, не допуская попадания в стакан частиц скорлупы. Стеклянной палочкой смешивают желтки с белками и полученную массу гомогенизируют с помощью гомогенизатора или миксера при средней скорости, не допуская вспенивания. Для удаления пленок и мембран гомогенат фильтруют через два слоя марли.

7.6.2.2 Яичные продукты

Подготовку лабораторных проб яичных продуктов проводят по ГОСТ Р 53669.

Подготовленные пробы хранят до окончания испытания в плотно закрытой стеклянной емкости в холодильнике при температуре от 4 °С до 8 °С.

7.6.3 Кислотный гидролиз пробы

Навеску подготовленной по 7.6.2 пробы массой:

- 5 г жидкого меланжа или перемешанного яйца (яичной массы);
- 3 г жидкого желтка;
- 2 г яичного сухого меланжа или сухого желтка взвешивают в конической колбе вместимостью 100 см^3 с записью результата взвешивания в граммах до третьего десятичного знака и медленно добавляют с постоянным энергичным встряхиванием колбы 10 см^3 неразбавленной (жидкие яичные продукты) или разбавленной (сухие яичные продукты) соляной кислоты (смешивают по объему четыре части концентрированной соляной кислоты и одну часть дистиллированной воды), смывая все частицы яичного продукта, приставшие к стенкам колбы, подсоединяют холодильник и помещают в водяную баню, нагретую до температуры (70 ± 2) °С, доводят до кипения и продолжают кипятить 20 мин, встряхивая колбу через каждые 5 мин. В процессе гидролиза через верхнее отверстие холодильника подают внутрь колбы небольшой поток азота. После окончания гидролиза колбу снимают с водяной бани, добавляют 10 см^3 дистиллированной воды и охлаждают до комнатной температуры.

Параллельно из подготовленной по 7.6.2 пробы отбирают навески для определения массовой доли жира по ГОСТ Р 53746.

7.6.4 Экстракция липидов

Содержимое колбы переносят в цилиндр вместимостью 100 см^3, смывая остатки пробы с колбы в цилиндр с помощью 10 см^3 дистиллированной воды. В колбу добавляют 25 см^3 диэтилового эфира, встряхивают, промывая стенки колбы, и добавляют в цилиндр. Цилиндр с гидролизованной пробой закрывают стеклянной пробкой и энергично встряхивают с переворачиванием цилиндра в течение примерно 1 мин, периодически открывая пробку для сброса давления. Затем осторожно вынимают пробку и добавляют в цилиндр 25 см^3 петролейного эфира, ополаскивая эфиром пробку и внутреннюю поверхность шлифа. Цилиндр закрывают пробкой и встряхивают с переворачиванием в течение примерно 30 с. Цилиндр оставляют в покое до полного разделения на водную и прозрачную эфирную фазы с чет-

кой границей между ними. Осторожно вынимают пробку, ополаскивают ее и внутреннюю поверхность шлифа с помощью примерно 5 см^3 петролейного эфира так, чтобы он стекал в цилиндр. Отбирают как можно больше верхнего эфирного слоя с помощью пипетки вместимостью 20 или 25 см^3 и переносят через воронку с безводным сернокислым натрием в грушевидную колбу вместимостью 100 см^3, в которую предварительно добавляют несколько кристаллов бутилокситолуола (используют воронку диаметром 56 мм и длиной 80 мм, в нижнюю часть носика которой помещают тампон из обезжиренной стекловаты и насыпают безводный сернокислый натрий слоем высотой примерно 30 мм).

Растворитель из грушевидной колбы отгоняют под вакуумом на ротационном испарителе (перед сбросом давления в кран впуска воздуха подают поток азота) и затем продувают потоком азота до полного исчезновения запаха растворителя. Экстрагированные липиды хранят в плотно закрытой колбе в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С не более 24 ч. При необходимости более длительного хранения колбу с экстрагированным жиром хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 12 °С (срок хранения — не более одной недели).

На всех этапах подготовки пробы и экстракции жира необходимо предохранять пробу от прямого попадания солнечных и ультрафиолетовых лучей.

7.7 Получение метиловых эфиров жирных кислот (метод внутреннего стандарта)

7.7.1 С помощью стеклянной палочки отбирают из колбы экстрагированные липиды (7.6.4), помещают их в предварительно взвешенную фторопластовую реакционную камеру автоклава или стеклянную виалу и взвешивают с записью результата взвешивания в миллиграммах до первого десятичного знака (масса жира должна быть в пределах 40 — 50 мг). В реакционную камеру автоклава или виалу с навеской липидов вносят 1 см^3 раствора метилового эфира трикозановой кислоты и бутилокситолуола в толуоле (см. 7.2). Перемешивают для растворения липидов и добавляют смесь, приготовленную по 7.1. Реакционную камеру помещают в автоклав и закрывают крышкой (виалу плотно закрывают завинчивающейся крышкой с фторопластовой прокладкой). Перед закрыванием емкостей их внутренний объем продувают азотом. Автоклав (виалу) с пробой и смесью по 7.1 помещают в предварительно нагретый до (60 ± 1) °С суховоздушный или жидкостной термостат и выдерживают при этой температуре в течение (80 ± 2) мин, периодически перемешивая содержимое с интервалом примерно 15 мин.

7.7.2 После окончания термостатирования содержимое реакционной камеры или виалы переносят в пробирку вместимостью 25 см^3 [можно использовать пробирку, в которой готовилась реакционная смесь (см. 7.1)]. В реакционную камеру или виалу вносят 3 см^3 гексана, закрывают крышкой, энергично встряхивают и смыв добавляют в пробирку. В пробирку добавляют 7 см^3 водного раствора хлорида натрия массовой долей 10 %, закрывают пробкой, энергично встряхивают с переворачиванием в течение 10 с и оставляют до полного разделения фаз. Верхнюю органическую фазу осторожно отбирают с помощью пипетки вместимостью 5 см^3 и пропускают через воронку с силикагелем и сернокислым натрием (см. 7.3), предварительно промытой 3 — 4 см^3 гексана (слой силикагеля в воронке должен все время быть смоченным растворителем), собирая фильтрат в пробирку вместимостью 5 см^3. После стекания раствора метиловых эфиров из воронки в нее добавляют 2 см^3 гексана и фильтрат собирают в эту же пробирку. Окончательный объем раствора метиловых эфиров жирных кислот должен быть примерно 5 — 6 см^3.

Срок хранения полученного раствора метиловых эфиров жирных кислот — 48 ч в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С.

7.8 Получение метиловых эфиров жирных кислот (метод внутренней нормализации)

Метиловые эфиры жирных кислот получают по 7.7 со следующим изменением в 7.7.1: в реакционную камеру или виалу с навеской липидов вместо раствора метилового эфира трикозановой кислоты и бутилокситолуола в толуоле вносят 1 см^3 раствора бутилокситолуола в толуоле, приготовленного по 7.3.

8 Проведение измерений

8.1 В испаритель хроматографа вводят 1 мм^3 раствора метиловых эфиров жирных кислот, приготовленных по 7.7 (метод внутреннего стандарта) или по 7.8 (метод внутренней нормализации). Хроматографирование проводят дважды. На полученной хроматограмме размечают все пики (кроме пика бутилокситолола) и с помощью программного обеспечения определяют значения площадей пиков.

9 Обработка результатов

9.1 Идентификация хроматографических пиков

Идентификацию пиков проводят по времени удерживания хроматографических пиков по ГОСТ Р 51483 или путем сравнения хроматограммы пробы с хроматограммой тестовой смеси метиловых эфиров жирных кислот. На рисунке 1 показана хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот, типичная для липидов куриных яиц.

Для интерпретации пиков можно воспользоваться приложением Б, в котором приведен характерный для куриных яиц перечень жирных кислот, порядок их выхода на хроматограмме (колонка Omegawax 320) и диапазон значений площадей пиков в процентах по отношению к сумме площадей всех пиков метиловых эфиров жирных кислот.

Сумма относительных площадей не идентифицированных пиков не должна превышать 0,5 %. Соответствующее значение должно быть указано в протоколе испытаний.

9.2 При определении жирно-кислотного состава методом внутренней нормализации массовую долю индивидуальной жирной кислоты X_k, %, по отношению к сумме масс всех жирных кислот вычисляют по формуле

$$X_k = 100 \cdot \frac{S_k \cdot K_k}{\sum_{i=1}^{N} (S_i \cdot K_i)}, \quad (1)$$

где S_k — площадь хроматографического пика метилового эфира определяемой жирной кислоты;

$\sum_{i=1}^{N} (S_i \cdot K_i)$ — сумма площадей всех идентифицированных хроматографических пиков метиловых эфиров жирных кислот с учетом соответствующих поправочных коэффициентов K_i (см. приложение А);

K_k — поправочные коэффициенты, учитывающие различия в чувствительности детектора ПИД к метиловым эфирам разных жирных кислот и отличия молекулярных масс жирных кислот и их метиловых эфиров (коэффициенты K_k приведены в приложении А);

N — общее количество определяемых жирных кислот.

В качестве результата единичного измерения принимают среднеарифметические значения X_k, полученные для двух хроматографирований одной и той же смеси метиловых эфиров жирных кислот.

9.3 Массовую долю жирных кислот Y_k, %, в экстрагированных из продуктов липидах вычисляют по методу внутреннего стандарта по формуле

$$Y_k = 100 \cdot \frac{0{,}962 \cdot S_k \cdot K_k \cdot c \cdot V}{S_{\text{вн.ст}} \cdot K_{\text{вн.ст}} \cdot m} \quad (2)$$

где S_k и K_k — соответственно абсолютные значения площадей пиков и поправочных коэффициентов для определяемых жирных кислот;

$S_{\text{вн.ст}}$ и $K_{\text{вн.ст}}$ — соответственно абсолютные значения площадей пиков и поправочных коэффициентов для внутреннего стандарта (метиловый эфир трикозановой кислоты С23:0);

C — массовая концентрация метилового эфира трикозановой кислоты в стандартном растворе в толуоле, мг/см^3;

V — объем стандартного раствора метилового эфира трикозановой кислоты, вносимого в реакционную камеру автоклава или виалу, см^3;

0,962 — отношение молекулярных масс трикозановой кислоты и ее метилового эфира;

m — масса навески экстрагированных липидов, использованной для получения метиловых эфиров жирных кислот, мг.

В качестве результата единичного измерения принимают среднеарифметические значения Y_k, полученные для двух хроматографирований одной и той же смеси метиловых эфиров жирных кислот.

9.4 За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение $\overline{X}_k$ (метод внутренней нормализации) или $\overline{Y}_k$ (метод внутреннего стандарта) результатов двух определений, выполненных в условиях повторяемости по ГОСТ Р ИСО 5725-1 для двух идентичных проб яиц или яичных продуктов, если выполняется условие приемлемости

$$|Z_1 - Z_2| \le r, \tag{3}$$

где Z_1, Z_2 — результаты единичных определений для двух идентичных проб массовых долей индивидуальных жирных кислот X_k (см. 9.2) или Y_k (см. 9.3), %;

r — предел повторяемости при $P = 0,95$, % (таблицы 1 и 2).

9.5 Расхождение между результатами двух независимых определений, полученных при использовании одного и того же метода, на одной и той же пробе, в разных лабораториях, разными операторами, с использованием различного оборудования, должно удовлетворять следующему условию приемлемости:

$$|\overline{Z}_1 - \overline{Z}_2| \le CD_{0,95}, \tag{4}$$

где $\overline{Z}_1$, $\overline{Z}_2$ — среднеарифметические значения результатов определения массовых долей индивидуальных жирных кислот $\overline{X}_k$ (метод внутренней нормализации) или $\overline{Y}_k$ (метод внутреннего стандарта), полученных в двух разных лабораториях, %;

$CD_{0,95}$ — значение критической разности при $P = 0,95$ и двух параллельных определений в каждой лаборатории, % (таблицы 1 и 2).

10 Оформление результатов

10.1 Результат измерений представляют в виде

$$\overline{Z}_k \pm \Delta, \tag{5}$$

где $\overline{Z}_k$ — среднеарифметические значения результатов определения массовых долей индивидуальных жирных кислот $\overline{X}_k$ или $\overline{Y}_k$, %, признанных приемлемыми по 9.4;

$\pm \Delta$ — границы абсолютной погрешности, %, при $P = 0,95$ (таблицы 1 и 2).

Результат измерения округляют до первого десятичного знака.

10.2 Массовую долю индивидуальных жирных кислот V_k в пересчете на исходный продукт, мг/100 г продукта, вычисляют по формуле

$$V_k = \frac{1000 \cdot \overline{Y}_k \cdot F}{100}, \tag{6}$$

где $\overline{Y}_k$ — среднеарифметические значения результатов определений по методу внутреннего стандарта массовых долей индивидуальных жирных кислот в экстрагированных липидах (см. 9.3), %;

F — массовая доля жира в подготовленной лабораторной пробе продукта (см. 7.6.2), измеренная по ГОСТ Р 53746, %.

Результат вычислений округляют до целого числа.

11 Требования к условиям измерений

При выполнении измерений температура и относительная влажность в лабораторном помещении, напряжение и частота переменного тока питающей электросети не должны выходить за предельные значения, приведенные в технических инструкциях на средства измерений и оборудование, указанные в разделе 6.

12 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений, обработке и оформлению результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или среднее специальное образование и опыт работы в химической лаборатории, изучившие инструкцию по эксплуатации газового хроматографа и прошедшие соответствующий инструктаж, освоившие газохроматографический метод определения жирно-кислотного состава в процессе обучения и получившие удовлетворительные результаты при оперативном контроле процедуры измерения.

13 Требования безопасности

13.1 При подготовке и проведении испытаний необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами и горючими газами по ГОСТ 12.1.007, правила пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и правила взрывобезопасности по ГОСТ 12.1.010. При работе с электроприборами необходимо соблюдать требования безопасности по ГОСТ 12.1.019.

13.2 При работе со сжатыми газами следует соблюдать правила безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением [3]. Запрещается работать с негерметичными газовыми линиями хроматографа.

13.3 Помещение, в котором проводят измерения, должно быть снабжено приточно-вытяжной вентиляцией. Работу с концентрированной соляной кислотой, метанолом, диэтиловым и петролейным эфиром необходимо проводить в вытяжном шкафу.

Ацетилхлорид вызывает раздражение кожи и слизистых оболочек, поражает дыхательные пути, поэтому работу с ацетилхлоридом следует проводить только в вытяжном шкафу с применением индивидуальных средств защиты.

Приложение А
(обязательное)

Значения поправочных коэффициентов K_i для вычисления массовых долей жирных кислот

А.1 Значения поправочных коэффициентов K_i для вычисления массовых долей жирных кислот приведены в таблице А.1.

Таблица А.1

Обозначение жирных кислот	Значение поправочного коэффициента	Обозначение жирных кислот	Значение поправочного коэффициента
C10:0	1,090	C18:3	0,979
C10:1	1,077	C20:0	0,989
C12:0	1,056	C20:1	0,982
C12:1	1,046	C20:2	0,976
C14:0	1,032	C20:3	0,971
C14:1	1,023	C20:4	0,963
C15:0	1,022	C20:5	0,957
C15:1	1,014	C22:0	0,980
C16:0	1,014	C22:1	0,974
C16:1	1,006	C22:2	0,968
C16:2	0,998	C22:5	0,956
C17:0	1,007	C22:6	0,951
C17:1	0,999	C24:0	0,972
C18:0	1,000	C24:1	0,967
C18:1	0,993	C23:0 (внутренний стандарт)	0,976
C18:2	0,986		

Примечание — Разные пространственные изомеры и изомеры по положению C=C связей для ненасыщенных жирных кислот (например, C18 : ln9 и C18 : ln7) имеют одинаковые поправочные коэффициенты.

Приложение Б
(справочное)

Наименования и диапазон значений относительных площадей хроматографических пиков жирных кислот

Б.1 Названия и обозначения жирных кислот, а также диапазон значений относительных площадей хроматографических пиков к сумме площадей всех пиков, характерных для липидов куриных яиц (жирные кислоты перечисляются в порядке выхода соответствующих хроматографических пиков при использовании капиллярной колонки Omegawax 320), приведены в таблице Б.1.

Таблица Б.1

Тривиальное наименование кислоты	Химическое наименование кислоты	Сокращенное обозначение	Относительные площади пиков, %
Лауриновая	Додекановая	C12:0	0,0 — 0,03
Миристиновая	Тетрадекановая	C14:0	0,2 — 0,6
Миристоленивая	Цис-9-тетрадеценовая	C14:1n5	0,02 — 0,2
—	Пентадекановая	C15:0	0,0 — 0,2
Пальмитиновая	Гексадекановая	C16:0	19,8 — 29,1
Пальмитолеиновая (n9)	7-гексадеценовая	C16:1n9	0,1 — 0,4
Пальмитолеиновая	9-гексадеценовая	C16:1n7	0,5 — 5,3
Маргариновая	Гептадекановая	C17:0	0,1 — 0,3
Маргаринолеиновая	Гептадеценовая	C17:1	0,1 — 0,3
Стеариновая	Октадекановая	C18:0	5,3 — 16,3
Олеиновая	9-октадеценовая	C18:1n9	23,1 — 45,7
Цис-вакценовая	12-октадеценовая	C18:1n7	1,5 — 2,5
Линолевая	9,12- октадекадиеновая	C18:2n6	8,7 — 27,8
Гамма-линоленовая	6,9,12-октадекатриеновая	C18:3n6	0,07 — 0,4
Альфа-линоленовая	9,12,15-октадекатриеновая	C18:3n3	0,06 — 8,4
Арахиновая	Эйкозановая	C20:0	0,01 — 0,2
Гондоиновая	11-эйкозеновая	C20:1n9	0,1 — 0,5
—	11,14-эйкозадиеновая	C20:2n6	0,1 — 0,2
Дигомо-гамма-линоленовая	8,11,14-эйкозатриеновая	C20:3n6	0,1 — 2,5
Арахидоновая	5,8,11,14-эйкозатетраеновая	C20:4n6	0,4 — 5,2
EPA	5,8,11,14,17-эйкозапентаеновая	C20:5n3	0,0 — 0,9
Бегеновая	Докозановая	C22:0	0,03 — 1,4
Эруковая	13-докозеновая	C22:1n9	0,0 — 0,1
—	7,10,13,16-докозатетраеновая	C22:4n6	0,0 — 0,5
DPA	7,10,13,16,19-докозапентаеновая	C22:5n3	0,0 — 0,5
DHA	4,7,10,13,16,19-докозагексаеновая	C22:6n3	0,5 — 5,5

Примечание — В обозначении цис-ненасыщенных жирных кислот вместо *n* используют также букву *w*, соответственно к омега-3 и омега-6 жирным кислотам относятся кислоты, обозначенные соответственно как *n*3 и *n*6. Кроме перечисленных жирных кислот, на хроматограммах могут наблюдаться хроматографические пики между пиками C18 : 3 и C20 : 0, относящиеся к смеси изомеров конъюгированной линолевой кислоты (10, 12-C18 : 2 и 9,11-C18 : 2).

Библиография

[1] Omegawax Column Test Mix. Фирма Supelco, США, кат. № 48476

[2] PUFA-2, Animal Source. Фирма Supelco, США, кат. №. 47015-U

[3] ПБ 10-115—96 Правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением. Утверждены Постановлением Гостехнадзора России от 18 апреля 1995 г. № 20

УДК 637.544:006.354 ОКС 67.120.20 Н09

Ключевые слова: пищевые яйца птичьи, пищевые продукты переработки яиц, липиды, массовая доля жирных кислот по отношению ко всем жирным кислотам, массовая доля жирных кислот в липидах, метиловые эфиры жирных кислот, газожидкостная хроматография, метод внутренней нормализации, метод внутреннего стандарта

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *А.В. Бестужевой*

Сдано в набор 28.12.2011. Подписано в печать 30.01.2012. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,48. Тираж 151 экз. Зак. 143.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru