МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32150— 2013

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ЯИЦ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

Метод определения жирно-кислотного состава

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

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 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИПП» Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 116)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 марта 2013 г. № 55-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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 ноября 2013 г. № 1520-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32150—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 54055—2010*

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2019 г.

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»

* Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 ноября 2013 г. № 1520-ст ГОСТ Р 54055—2010 отменен с 1 июля 2015 г.

© Стандартинформ, оформление, 2014, 2019

В Российской Федерации 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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

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 — 2015—07—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 межгосударственные стандарты:

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

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

ГОСТ 12.1.010 Система стандартов безопасности труда. Взрывобезопасность. Общие требования

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

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

ГОСТ 3022 Водород технический. Технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3956 Силикагель технический. Технические условия

ГОСТ 4166 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 5829 Реактивы. Ацетил хлористый. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 9147 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9293 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 11109 Марля бытовая хлопчатобумажная. Общие технические условия

ГОСТ 14919 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 17433 Промышленная чистота. Сжатый воздух. Классы загрязненности

ГОСТ 24104 Весы лабораторные. Общие технические требования

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

Издание официальное

ГОСТ 26703 Хроматографы аналитические газовые. Общие технические условия и методы испытаний

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

ГОСТ 29169 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

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

ГОСТ 31469 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы физико-химического анализа

ГОСТ 31654 Яйца куриные пищевые. Технические условия

ГОСТ 31655 Яйца пищевые (индюшиные, цесариные, перепелиные, страусиные). Технические условия

ГОСТ 31663 Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот

ГОСТ 31720 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы отбора проб и органолептического анализа

ГОСТ ИСО 5725-1 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения[1)]

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (www.easc.by) или по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ 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 следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **пищевые яйца (сельскохозяйственной птицы):** Яйца в скорлупе, произведенные сельскохозяйственной птицей, пригодные для непосредственного потребления человеком и переработки с целью получения продуктов питания.

Примечание — Пищевые яйца в зависимости от вида птицы могут подразделять, например, на куриное, перепелиное, индюшиное.

3.2 **пищевой продукт переработки яиц (сельскохозяйственной птицы):** Пищевой продукт, полученный в промышленных условиях в результате проведения комплекса технологических процессов и/или операций, изменяющих начальные свойства пищевого яйца сельскохозяйственной птицы.

3.3 **яичный меланж:** Пищевой продукт переработки яиц сельскохозяйственной птицы, полученный из яичной массы, прошедшей фильтрацию, гомогенизацию и пастеризацию.

3.4 **купажированный яичный меланж:** Яичный меланж заданного состава, полученный из яичной массы с добавлением яичного белка или яичного желтка.

3.5 **яичный желток [белок]:** Пищевой продукт переработки яиц сельскохозяйственной птицы, полученный из желточной [белковой] массы, прошедшей фильтрацию, гомогенизацию и пастеризацию.

3.6 **жидкий яичный меланж [белок, желток]:** Яичный меланж [белок, желток], выработанный без добавления или удаления воды.

3.7 **концентрированный яичный меланж [белок]:** Жидкий яичный меланж [белок], из которого частично удалена вода до достижения в нем установленной для данного продукта значения массовой доли сухих веществ, занимающей промежуточное положение между значениями данного показателя жидкого и сухого продуктов.

3.8 **охлажденный яичный меланж [белок, желток]:** Жидкий яичный меланж [белок, желток] или концентрированный яичный меланж [белок], подвергнутый охлаждению, с температурой в толще продукта от 0 °С до 4 °С.

[1)] В Российской Федерации действует также ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002.

3.9 **замороженный яичный меланж [белок, желток]** (Нрк. *мороженый яичный продукт*): Жидкий яичный меланж [белок, желток] или концентрированный яичный меланж [белок], подвергнутый замораживанию, с температурой в толще продукта не выше минус 12 °С.

3.10 **глубокозамороженный яичный меланж [белок, желток]:** Жидкий яичный меланж [белок, желток] или концентрированный яичный меланж [белок], подвергнутый замораживанию, с температурой в толще продукта не выше минус 18 °С.

3.11 **сухой яичный меланж [белок, желток]** (Нрк. *сухой порошок*): Жидкий яичный меланж [белок, желток] или концентрированный яичный меланж [белок], из которого удалена вода до достижения в нем значения массовой доли сухих веществ 95 % и более.

3.12 **ферментированный яичный меланж [белок, желток]:** Яичный меланж [белок, желток], полученный в результате воздействия ферментов с целью изменения его функциональных свойств.

3.13 **обессахаренный яичный меланж [белок, желток]:** Яичный меланж [белок, желток], полученный в результате применения технологических операций по удалению содержащихся в нем сахаров.

3.14 **подкисленный яичный меланж [белок, желток]:** Яичный меланж [белок, желток], полученный в результате применения технологических операций по введению в его состав регуляторов кислотности.

3.15 **полуфабрикат из пищевых яиц сельскохозяйственной птицы:** Пищевой продукт, изготовленный в промышленных условиях непосредственно из пищевых яиц сельскохозяйственной птицы в скорлупе или без нее, подготовленный к дальнейшей кулинарной обработке.

Примечания

1 Полуфабрикат из пищевых яиц сельскохозяйственной птицы может быть изготовлен с добавлением определенных рецептурой ингредиентов, например, животного и/или растительного происхождения.

2 В зависимости от термической обработки полуфабрикат из пищевых яиц сельскохозяйственной птицы может быть охлажденным, замороженным, глубокозамороженным.

3.16 **полуфабрикат из яичного меланжа [белка, желтка]:** Пищевой продукт, изготовленный в промышленных условиях из яичного меланжа [белка, желтка], подготовленный к дальнейшей кулинарной обработке.

Примечания

1 Полуфабрикат из яичного меланжа [белка, желтка] может быть изготовлен с добавлением определенных рецептурой ингредиентов, например, животного и/или растительного происхождения.

2 В зависимости от термической обработки полуфабрикат из яичного меланжа [белка, желтка] может быть охлажденным, замороженным, глубокозамороженным.

3.17 **кулинарное изделие из пищевых яиц сельскохозяйственной птицы:** Пищевой продукт, изготовленный в промышленных условиях непосредственно из яиц сельскохозяйственной птицы в скорлупе или без нее, подвергнутый кулинарной обработке и готовый к употреблению.

Примечания

1 В зависимости от кулинарной обработки кулинарное изделие из пищевых яиц сельскохозяйственной птицы может быть, например, вареным, жареным.

2 В зависимости от термической обработки кулинарное изделие из пищевых яиц сельскохозяйственной птицы может быть охлажденным, замороженным, глубокозамороженным.

3.18 **кулинарное изделие из яичного меланжа [белка, желтка]:** Пищевой продукт, изготовленный в промышленных условиях из яичного меланжа [белка, желтка], подвергнутый кулинарной обработке и готовый к употреблению.

Примечания

1 В зависимости от кулинарной обработки кулинарное изделие из яичного меланжа [белка, желтка] может быть, например, вареным, жареным.

2 В зависимости от термической обработки кулинарное изделие из яичного меланжа [белка, желтка] может быть охлажденным, замороженным, глубокозамороженным.

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 ± Δ, %	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.

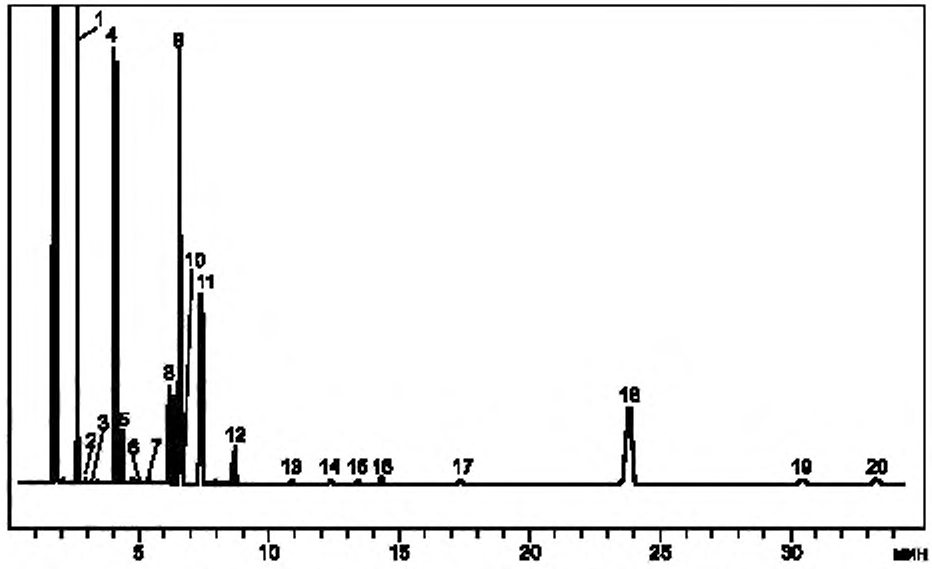
Ротационный испаритель типа ИР-2.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 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.



1 — бутилокситолуол; *2* — C14:0; *3* — C14:1n5; *4* — C16:0. *5* — C16.1n7; *6* — C17:0; *7* — C17:1. *8* — C18:0; *9* — C18:1n9; *10* — C18:1n7;*11* — C18:2n6. *12* — C18:3n3; *13* — C20:0; *14* — C20:1n9. *15* — C20:3n6; *16* — C20:4n6; *17* — C20:5n3, *18* — C23.0 (внутренний стандарт); *19* — C22:5n3; *20* — C22:6n3

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

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.

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-2-5-14/23 ХС, 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 31654, индюшиных, цесариных, перепелиных и страусиных — по ГОСТ 31655, яичных продуктов — по ГОСТ 31720.

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 31720.

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 каждого продукта соответственно 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 31469.

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 четкой 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 (см. 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 автоклава 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 бутилокситолуола) 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 31663 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 ИСО 5725-1 для двух идентичных проб яиц или яичных продуктов, если выполняется условие приемлемости:

$$|Z_1 - Z_2| \le r, \quad (3)$$

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:

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

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

$$\overline{Z}_k \pm \Delta, \quad (5)$$

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

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

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 31469, %.

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 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. 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
Миристоолеиновая	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 ω, соответственно к омега-3 и омега-6 жирным кислотам относятся кислоты, обозначенные соответственно как n3 и n6. 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

УДК 637.544:006.354 МКС 67.120.20

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 *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 15.11.2019. Подписано в печать 05.12.2019 Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва. Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru