МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32886— 2014

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ЯИЦ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

Определение содержания холестерина газохроматографическим методом

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 РАЗРАБОТАН 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

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 июля 2014 г. № 68-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
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 августа 2014 г. № 972-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32886—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 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»

© 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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Определение содержания холестерина газохроматографическим методом 2
Приложение А (обязательное) Эффективность разделения и разметка хроматографических пиков холестерина и холестанола 9

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ЯИЦ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

Определение содержания холестерина газохроматографическим методом

Foodstuffs of processed poultry eggs. Determination of cholesterol content by gas chromatographic method

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на жидкие и сухие яичные продукты, включая ферментированные (яичный желток, яичный меланж), а также на сухой яичный желток с добавками соли и/или гидроколлоидов и устанавливает метод определения содержания общего холестерина. Результат измерений содержания холестерина выражают в виде массовой доли, %, в пересчете на сухое вещество или в виде массовой доли, %, условного сухого чистого желтка в пробе в пересчете на сухое вещество.

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 4166 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 5789 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9293 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

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

ГОСТ 18300 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия[1)]

ГОСТ 24363 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

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

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

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 55878—2013 «Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия».

Издание официальное

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

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования

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 (gost.e-ecolog.ru казателям 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 термины, действующие на территории государства, принявшего стандарт[2)], а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **холестерин (холестерол):** Общий холестерин (свободный и этерифицированный), экстрагированный из яичных продуктов в соответствии с процедурой, установленной в настоящем стандарте.

3.2 **условный чистый желток:** Содержимое яичного желтка в свежем яйце после полного отделения яичного белка, мембран и халазы, характеризующееся усредненными для данного вида птичьих яиц показателями химического состава, в том числе усредненным содержанием холестерина в пересчете на сухое вещество.

4 Определение содержания холестерина газохроматографическим методом

4.1 Сущность метода

Сущность метода заключается в прямом омылении липидов пробы смесью этиловый спирт — гидроксид калия (при этом этерифицированный холестерин превращается в свободный холестерин), экстракции неомыляемых веществ толуолом или гексаном и количественном определении холестерина в экстракте методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием в качестве внутреннего стандарта холестанола, добавляемого в пробу перед омылением.

4.2 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 используемого оборудования и средств измерений и прошедшие соответствующий инструктаж, освоившие методику определения содержания холестерина в процессе обучения и получившие удовлетворительные результаты при оперативном контроле процедуры измерения.

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения».

[2)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52943—2008 «Птицеперерабатывающая промышленность. Продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы пищевые. Термины и определения».

4.3 Требования безопасности

4.3.1 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.

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

4.3.3 Помещение, в котором проводятся измерения, должно быть оснащено приточно-вытяжной вентиляцией. Работу с метанолом, толуолом и гексаном необходимо проводить в вытяжном шкафу.

4.4 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 4.5.

4.5 Средства измерений, аппаратура, реактивы и материалы

Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором (ПИД), пределом детектирования не более $2 \cdot 10^{-12}$ 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 стационарной жидкой фазой OV-5 (5%-фенил-95%-диметилсиликон) длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной фазы 0,25 мкм или другая колонка, обеспечивающая разделение пиков и продолжительность хроматографирования согласно приложению А.

Микрошприц Газохром-101 или МШ-1 вместимостью 1 $мм^3$ или другого типа, обеспечивающего аналогичную точность дозирования.

Ротационный испаритель типа ИР-2.

Весы лабораторные высокого класса точности с действительной ценой деления шкалы 0,1 мг по ГОСТ OIML R 76-1.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919.

Баня водяная.

Часы.

Колбы мерные 2—100—1, 1—1000—2 по ГОСТ 1770.

Пипетки 2—2—5, 2—2—10 по ГОСТ 29227.

Пипетки 1—1—1—1, 1—1—1—2, 1—1—2—5 по ГОСТ 29169.

Пробирки П-2—10—14/23 ХС по ГОСТ 1770 или П4-25—14/23 по ГОСТ 25336.

Колбы конические Кн-1—100—19/26 ХС или Кн-1—100—14/23 ХС по ГОСТ 25336.

Колбы грушевидные Гр-1—100—14/23 по ГОСТ 25336.

Стаканы химические В-1—250 ТХС, В-1—500 ХС по ГОСТ 25336.

Воронки В-36—50 ХС по ГОСТ 25336.

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

Холодильник стеклянный ХШ-1—100—14/23 ХС или ХСН-10 ХС 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.

Палочки стеклянные.

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.

Холестерин (холестерол, $C_{27}H_{45}OH$), массовая доля основного вещества не менее 99,5 %.

Холестанол (5α-холестан-3β-ол, $C_{27}H_{47}OH$), массовая доля основного вещества не менее 99,5 %.

Гексан для хроматографии.

Спирт этиловый «экстра» по ГОСТ 18300.

Толуол по ГОСТ 5789, ч. д. а.

Калия гидроокись по ГОСТ 24363, х. ч.

Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, х. ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

4.6 Подготовка к проведению измерений

4.6.1 Отбор проб и подготовка их к испытаниям — по ГОСТ 31720.

4.6.1.1 Представительная проба жидкого яичного меланжа или желтка должна быть массой не менее 500 г, сухого яичного меланжа или желтка — не менее 150 г. Пробы до проведения испытаний хранят в плотно закрытой стеклянной посуде в холодильнике не более двух суток. Замораживание охлажденных жидких яичных продуктов не допускается.

4.6.1.2 Перед проведением испытаний замороженные яичные продукты размораживают при комнатной температуре или на водяной бане при температуре не более 50 °С. Охлажденные или размороженные жидкие яичные продукты перемешивают до образования однородной массы.

4.6.1.3 Сухие яичные продукты хранят в плотно закрытых пакетах или стеклянной емкости и перед проведением испытаний растирают слегка пестиком для разбивания комков и тщательно перемешивают.

4.6.2 Приготовление раствора гидроокиси калия молярной концентрации 1,0 моль/дм^3

В мерной колбе вместимостью 1000 см^3 по ГОСТ 25336 взвешивают 56,1 г гидроокиси калия с точностью ± 0,1 г, добавляют 500 см^3 дистиллированной воды и перемешивают до растворения гидроокиси калия. После охлаждения раствора до комнатной температуры доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор хранят в плотно укупоренной полиэтиленовой посуде при комнатной температуре.

Срок хранения — не более 4 мес.

4.6.3 Приготовление раствора гидроокиси калия молярной концентрацией 0,5 моль/дм^3

Раствор готовят разбавлением раствора гидроокиси калия в два раза дистиллированной водой.

Раствор хранят в плотно укупоренной полиэтиленовой посуде при комнатной температуре.

Срок хранения — не более 4 мес.

4.6.4 Приготовление раствора гидроокиси калия массовой долей 50 %

В термостойкой посуде по ГОСТ 25336 взвешивают 100 г гидроокиси калия с точностью ± 0,1 г, добавляют с помощью мерного цилиндра 100 см^3 дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой до растворения гидроокиси калия и охлаждения раствора до комнатной температуры.

Раствор хранят в плотно укупоренной полиэтиленовой посуде при комнатной температуре.

Срок хранения — не более 4 мес.

4.6.5 Приготовление основного раствора холестерина массовой концентрацией 5 мг/см^3 (Раствор II)

В мерной колбе вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770 взвешивают (500,0 ± 0,1) мг холестерина, добавляют примерно 60 см^3 толуола и перемешивают до растворения холестерина. Доводят объем до метки толуолом.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4 °С — 8 °С.

Срок хранения раствора — не более 3 мес.

Допускается при приготовлении основного раствора холестерина вместо толуола использовать гексан. Раствор холестерина в гексане хранят в темном месте при комнатной температуре, срок хранения — не более 5 сут.

4.6.6 Приготовление основного раствора холестанола (внутренний стандарт) массовой концентрацией 10 мг/см^3 (Раствор I)

В мерной колбе вместимостью 100 см^3 взвешивают (1000,0 ± 0,1) мг холестанола, добавляют примерно 60 см^3 толуола и перемешивают до растворения холестанола. Доводят объем до метки толуолом.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4 °С — 8 °С.

Срок хранения раствора — не более 3 мес.

Допускается при приготовлении основного раствора холестанола вместо толуола использовать гексан. Раствор холестанола в гексане хранят в темном месте при комнатной температуре, срок хранения — не более 5 сут.

4.6.7 Приготовление рабочих растворов холестерина и холестанола

Готовят четыре рабочих раствора с отношением содержания холестерина к содержанию холестанола от 0,5 до 2,0. В пробирку вместимостью 10 см^3 вносят 1 см^3 основного раствора холестанола по 4.6.6 (Раствор I), необходимый объем основного раствора холестерина по 4.6.5 (Раствор II), добавляют толуол (или гексан) до общего объема смеси 10 см^3 и перемешивают. Схема дозирования растворов приведена в таблице 1.

Рабочие растворы готовят непосредственно перед использованием.

Таблица 1 — Схема дозирования растворов при приготовлении рабочих растворов холестерина и холестанола

Обозначение рабочих растворов	Объемы вносимых растворов, см^3			Масса, мг	
	Раствор I	Раствор II	Толуол или гексан	холестерина $m_{вх}$	внутреннего стандарта (холестанола) $m_{хол}$
A	1	1	8	10	5
B	1	2	7	10	10
C	1	3	6	10	15
D	1	4	5	10	20

4.6.8 Подготовка газового хроматографа и капиллярной колонки

Подготовку газового хроматографа и капиллярной колонки (кондиционирование колонки) проводят согласно инструкциям по эксплуатации. Режимы хроматографа при работе с разными типами капиллярных колонок подбирают так, чтобы качество разделения хроматографических пиков холестерина и холестанола соответствовало требованиям, указанным в приложении А.

Рекомендуются следующие режимы работы хроматографа:

- температура детектора — 280 °С;
- температура инжектора — 260 °С;
- программирование температуры термостата колонки: 150 °С в течение 3 мин; нагрев со скоростью 15 °С/мин до 260 °С; выдерживание при 260 °С в течение 45 мин;
- давление газа-носителя (азот) в испарителе — 130 кПа;
- деление потока газа носителя в испарителе — 1:30;
- расходы водорода, воздуха и азота (поддув в детектор) устанавливают согласно инструкции к эксплуатации хроматографа или подбирают путем хроматографирования градуировочных смесей (см. 4.6.7) для обеспечения максимальной чувствительности детектора ПИД.

4.6.9 Градуировка газового хроматографа

4.6.9.1 Хроматографируют рабочие растворы холестерина и холестанола, приготовленные по 4.6.7. В испаритель хроматографа вводят 1 мм^3 рабочего раствора. Каждый рабочий раствор хроматографируют дважды. На полученных хроматограммах проводят разметку пиков холестерина и холестанола согласно приложению А и определяют площади этих пиков.

4.6.9.2 Для каждой полученной хроматограммы рабочих растворов вычисляют градуировочные коэффициенты K_j по формуле

$$K_j = \frac{S_{хол}}{S_{вс}} \cdot \frac{m_{вс}}{m_{хол}}, \quad (1)$$

где $S_{хол}$ и $S_{вс}$ — соответственно площади хроматографических пиков холестерина и внутреннего стандарта (холестанола);

$m_{хол}$ и $m_{вс}$ — соответственно массы холестерина и внутреннего стандарта (холестанола), содержащихся в рабочем растворе (см. таблицу 1), мг.

За окончательное значение градуировочного коэффициента K принимают среднеарифметическое значение всех измеренных коэффициентов K_j, при этом относительное среднеквадратичное отклонение K_j не должно превышать 1 %.

4.6.9.3 Хроматографирование пробы и хроматографирование при определении градуировочного коэффициента проводят при одинаковых режимах работы хроматографа и одинаковом способе разметки хроматографических пиков.

4.6.10 Омыление липидов пробы

4.6.10.1 В грушевидной колбе вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336 взвешивают 1 г жидкого яичного желтка, 3 г жидкого яичного меланжа, 0,5 г сухого яичного желтка, 0,6—0,7 г сухого яичного меланжа или сухого яичного желтка с добавками соли и/или гидроколлоидов, приготовленных по 4.6.1. Результаты взвешивания записывают в граммах до четвертого десятичного знака.

4.6.10.2 В грушевидную колбу с пробой добавляют 1 $см^3$ основного раствора холестанола (внутренний стандарт) массовой концентрацией 10 $мг/см^3$ (см. 4.6.6), 20 $см^3$ этилового спирта и осторожно перемешивают содержимое вращательным движением колбы. Затем добавляют 5 $см^3$ раствора гидроокиси калия массовой долей 50 % (см. 4.6.4), присоединяют стеклянный холодильник, помешают грушевидную колбу в водяную баню или закрепляют ее над электроплиткой и нагревают при слабом кипении смеси в течение (70 ± 10) мин, перемешивая содержимое каждые 10 мин. После окончания нагрева колбу отсоединяют от холодильника и в еще горячую смесь осторожно добавляют с помощью мерного цилиндра 20 $см^3$ этилового спирта и охлаждают до комнатной температуры, перемешивая содержимое каждые 5 мин. Полученную смесь можно хранить при комнатной температуре в течение 24 ч.

4.6.11 Экстракция неомыляемых веществ

4.6.11.1 В грушевидную колбу с полученной по 4.6.10 смесью добавляют 50 $см^3$ толуола или гексана, закрывают стеклянной пробкой и перемешивают в течение 30 с. Затем содержимое колбы без ополоскивания переносят в делительную воронку. В делительную воронку добавляют с помощью мерного цилиндра 55 $см^3$ раствора гидроокиси калия молярной концентрацией 1 $моль/дм^3$ (см. 4.6.2), закрывают стеклянной пробкой и сильно встряхивают в течение 10 с. После образования четкой границы раздела фаз (без слоя эмульсии) нижнюю фазу сливают и отбрасывают. В делительную воронку с оставшейся органической фазой, содержащей раствор неомыляемых веществ в толуоле или гексане, добавляют с помощью мерного цилиндра 20 $см^3$ раствора гидроокиси калия молярной концентрацией 0,5 $моль/дм^3$ (см. 4.6.3) и осторожно перемешивают содержимое переворачиванием колбы в течение 10 с, не допуская образования эмульсии. После образования четкой границы фаз нижнюю фазу сливают и отбрасывают. Осторожную промывку органической фазы раствором гидроокиси калия молярной концентрацией 0,5 $моль/дм^3$ проводят два раза. Последующую промывку органической фазы проводят дистиллированной водой порциями по 20 $см^3$, каждый раз сливая и отбрасывая нижнюю водную фазу. Промывку первой порцией дистиллированной воды проводят осторожным перемешиванием. При промывке последующими порциями дистиллированной воды интенсивность перемешивания содержимого колбы постепенно увеличивают. В случае образования стойкой эмульсии добавляют этиловый спирт. Промывку дистиллированной водой проводят несколько раз до получения совершенно прозрачной (без опалесценции) органической фазы (обычно требуется промывка 7—8 порциями дистиллированной воды).

4.6.11.2 После последней промывки нижнюю водную фазу сливают и отбрасывают, а оставшуюся органическую фазу сливают через верхнюю часть делительной воронки в коническую колбу вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336, содержащую 7—8 г безводного сернокислого натрия. Колбу закрывают стеклянной пробкой и выдерживают 10—15 мин. Полученный раствор неомыляемых веществ в толуоле или гексане можно хранить при комнатной температуре над безводным сернокислым натрием в течение 24 ч.

4.7 Проведение измерения

4.7.1 В грушевидную колбу вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336 помещают 20 $см^3$ раствора неомыляемых веществ в толуоле или гексане, полученного по 4.6.11, и выпаривают толуол (или гексан) на ротационном испарителе при температуре (40 ± 3) °С до образования небольшой капли. Остаток растворяют в 5 $см^3$ толуола (или гексана) и хроматографируют, вводя в испаритель хроматографа 1 $мм^3$ полученного раствора.

4.7.2 На хроматограмме проводят разметку пиков холестерина и холестанола согласно приложению А и определяют площади этих пиков. Площадь пика холестанола (внутренний стандарт) не должна отличаться более чем на 50 % от площади пика холестанола, измеренной для рабочего раствора В (см. 4.6.7). При необходимости хроматографируемый раствор разбавляют толуолом (или гексаном) или повторяют операции по 4.7.1, увеличив объем раствора, взятый для выпаривания, или уменьшив объем толуола (гексана), используемый для растворения остатка после выпаривания.

4.8 Обработка результатов

4.8.1 Массовую долю холестерина X в пересчете на сухое вещество, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C_{вс} \cdot V_{вс} \cdot S_{хол} \cdot 100}{1000 \cdot M \cdot S_{вс} \cdot K} \cdot \frac{100}{P}, \quad (2)$$

где $C_{вс}$ — массовая концентрация раствора холестанола (внутренний стандарт), добавляемого к пробе перед омылением липидов (см. 4.6.10.2), мг/см^3;

$V_{вс}$ — объем раствора холестанола (внутренний стандарт), добавляемого к пробе перед омылением липидов (см. 4.6.10.2), см^3;

$S_{хол}$ — площадь хроматографического пика холестерина;

100 — коэффициент пересчета массовой доли холестерина в проценты;

100 — коэффициент пересчета массовой доли сухих веществ пробы в процентах в относительные единицы;

1000 — коэффициент пересчета из миллиграмм в граммы;

M — масса пробы, взятая для анализа, г;

$S_{вс}$ — площадь хроматографического пика холестанола (внутренний стандарт);

K — градуировочный коэффициент (см. 4.6.9.2);

P — массовая доля сухих веществ в пробе, %, измеренная по ГОСТ 31469.

4.8.2 Массовая доля условного сухого чистого желтка в пробе Y, %, в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле

$$Y = \frac{100 \cdot X}{X_0}, \quad (3)$$

где 100 — коэффициент перевода в проценты;

X — измеренная массовая доля холестерина в пересчете на сухое вещество, %;

X_0 — коэффициент пересчета массовой доли холестерина в массовую долю условного сухого чистого желтка, %;

X_0 = 2,55 % для условного чистого сухого желтка куриных яиц.

4.8.3 За окончательный результат измерения принимают среднеарифметическое значение результатов определений, выполненных в условиях повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-1 для двух идентичных проб, если выполняется условие приемлемости

$$|X_1 - X_2| \le r, \quad (4)$$

где X_1, X_2 — результаты определений массовой доли холестерина в пересчете на сухое вещество для двух идентичных проб, %;

r — предел повторяемости при P = 0,95, % (см. 4.10).

4.8.4 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 и реактивов, должно удовлетворять следующему условию приемлемости

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \le CD_{0,95}, \quad (5)$$

где $\bar{X}_1$ и $\bar{X}_2$ — среднеарифметические значения результатов определений массовой доли холестерина в пересчете на сухое вещество, полученных в двух разных лабораториях (по два определения в каждой лаборатории), %;

$CD_{0,95}$ — критическая разность при P = 0,95, $n_1 = n_2 = 2$ (см. 4.10), % (n — количество измерений идентичных проб).

4.8.5 При выражении результатов в пересчете на массовую долю условного сухого чистого желтка оперативный контроль определения проводят по формулам (4) и (5) с использованием значений r и $CD_{0,95}$, указанных в 4.10.

4.9 Обработка результатов

Результат измерений представляют в виде

$$(\overline{X} \pm \Delta), \quad (6)$$

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов измерений содержания холестерина, %, или массовой доли условного сухого чистого желтка в пересчете на сухое вещество, %, признанных приемлемыми по формуле (4);

Δ — границы абсолютной погрешности при $P = 0,95$, % (см. 4.10, таблица 2 или таблица 3).

Среднеарифметическое значение $\overline{X}$ округляют до цифры того же разряда, что и последняя значащая цифра границы абсолютной погрешности Δ.

4.10 Точность метода

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности 0,95 приведены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 — Метрологические характеристики метода при определении массовой доли холестерина в яичных продуктах в пересчете на сухое вещество продукта

Диапазон измерений массовой доли холестерина в пересчете на сухое вещество продукта, %	Границы абсолютной погрешности ± Δ, % ($P = 0,95$)	Предел повторяемости r, % ($n = 2$, $P = 0,95$)	Критическая разность $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$, $P = 0,95$)
Жидкие яичные продукты (меланж, желток): от 1,40 до 2,55 включ.	0,14	0,10	0,19
Сухие яичные продукты (меланж, желток), сухой яичный желток с добавками соли и/или гидроколлоидов: от 1,40 до 2,55 включ.	0,22	0,16	0,29

Таблица 3 — Метрологические характеристики метода при определении содержания холестерина в яичных продуктах из куриных яиц в виде массовой доли условного чистого желтка в пересчете на сухое вещество продукта

Диапазон измерений содержания массовой доли условного сухого чистого желтка в пересчете на сухое вещество продукта, %	Границы абсолютной погрешности ± Δ, абс. % ($P = 0,95$)	Предел повторяемости r, абс. % ($n = 2$, $P = 0,95$)	Критическая разность $CD_{0,95}$, абс. % ($n_1 = n_2 = 2$, $P = 0,95$)
Жидкие яичные продукты (меланж, желток): от 54 до 100 включ.	6	4	7
Сухие яичные продукты (меланж, желток), сухой яичный желток с добавками соли и/или гидроколлоидов: от 54 до 100 включ.	9	6	11

Приложение А
(обязательное)

Эффективность разделения и разметка хроматографических пиков холестерина и холестанола

Оптимальность режима работы хроматографа и эффективность хроматографической колонки оценивают по хроматограмме рабочего раствора В с отношением массы холестерина и холестанола в растворе 1 : 1 (см. 4.6.7).

Число теоретических тарелок N вычисляют по формуле

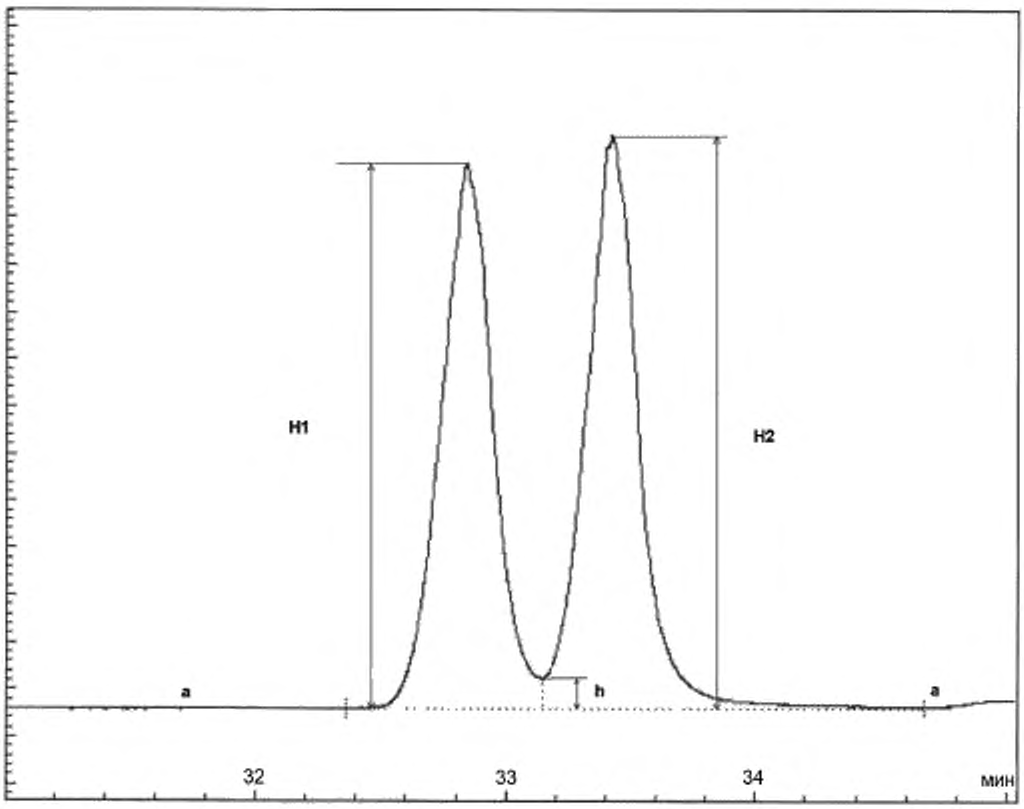
$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{W_R} \right)^2, \qquad \textbf{(А.1)}$$

где t_R — время удерживания пика, мин;

W_R — ширина пика на половине его высоты, мин.

Для холестерина значение N должно быть не менее $4{,}0 \cdot 10^5$, для холестанола — не менее $3{,}5 \cdot 10^5$.

Допускается частичное перекрывание пиков холестерина и холестанола. В этом случае разметка пиков проводится построением базовой линии по касательной к линии «а-а» фона, расположенной слева от пика холестерина и справа от пика холестанола, граница между пиками — вертикальная линия от точки минимума линии между пиками до базовой линии (см. рисунок А.1).



Пунктиром показаны базовая линия «а-а» и граница между пиками.

Рисунок А.1 — Участок хроматограммы градуировочного раствора В, содержащий пик холестерина (слева) и холестанола (справа)

Степень перекрывания пиков F (см. рисунок А.1), %, определяют по формуле

$$F = 100 \cdot \frac{2\ h}{H_1 + H_2}, \qquad (А.2)$$

где h — расстояние по вертикали от точки минимума между пиками до базовой линии;

H_1 и H_2 — соответственно высота пика холестерина и высота пика холестанола над базовой линией.

Степень перекрывания пиков должна быть не более 8 %.

УДК 637.4.04:006.354 МКС 67.120.20

Ключевые слова: жидкие и сухие яичные продукты, яичные продукты с добавками соли и/или гидроколлоидов, яичный меланж, яичный желток, массовая доля общего холестерина, массовая доля условного чистого сухого желтка, метод газовой хроматографии, холестанол

Редактор *Ю.А. Расторгуева*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Половой*

Сдано в набор 26.11.2019. Подписано в печать 29.11.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,15.

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