ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСТ ISO 23065-2015

ЖИР МОЛОЧНЫЙ ИЗ ОБОГАЩЕННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Определение содержания омега-3 и омега-6 жирных кислот в молочном жире методом газожидкостной хроматографии

ТЛУШЧ МАЛОЧНЫ З АБАГАЧАНЫХ МАЛОЧНЫХ ПРАДУКТАЎ

Вызначэнне змяшчэння амега-3 і амега-6 тлустых кіслот у малочным тлушчы метадам газавадкаснай храматаграфіі

(ISO 23065:2009, IDT)
(IDF 211:2009, IDT)

Издание официальное

Госстандарт
Минск

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 75-П от 27 февраля 2015 г.)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ISO 3166) 004—97	Код страны по МК (ISO 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 23065:2009 | IDF 211:2009 Milk fat from enriched dairy products — Determination of omega-3 and omega-6 fatty acid content by gas-liquid chromatography (Жир молочный из обогащенных молочных продуктов. Определение содержания омега-3 и омега-6 жирных кислот газожидкостной хроматографией).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 5 «Молоко и молочные продукты» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO) и Международной молочной федерацией (IDF).

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Госстандарте Республики Беларусь.

В разделе «Нормативные ссылки» и тексте стандарта ссылки на международные стандарты актуализированы.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

5 Введен в действие постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 25 мая 2015 г. № 29 непосредственно в качестве государственного стандарта Республики Беларусь с 1 марта 2016 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных (государственных) органов по стандартизации.

© Госстандарт, 2016

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта Республики Беларусь

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ЖИР МОЛОЧНЫЙ ИЗ ОБОГАЩЕННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ
Определение содержания омега-3 и омега-6 жирных кислот в молочном жире методом газожидкостной хроматографии

ТЛУШЧ МАЛОЧНЫ З АБАГАЧАНЫХ МАЛОЧНЫХ ПРАДУКТАЎ
Вызначэнне змяшчэння амега-3 і амега-6 тлустых кіслот у малочным тлушчы метадам газавадкаснай храматаграфіі

Milk fat from enriched dairy products
Determination of omega-3 and omega-6 fatty acid content by gas-liquid chromatographic method

Дата введения 2016-03-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания омега-3 (ω-3) и омега-6 (ω-6) жирных кислот в обезвоженном молочном жире, экстрагированном из молочных продуктов, содержащих указанные кислоты, в том числе обогащенных ими.

Описанная методика позволяет определить содержание наиболее важных ω-3 и ω-6 жирных кислот.

Примечание — Обозначения «омега-3», «ω-3» и «ω3» неправильные, но при практическом использовании они равнозначны «ω-3». То же самое касается «омега-6», «ω-6» и «ω6», которые равнозначны «ω-6».

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные стандарты. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения).

ISO 14156:2001 | IDF 172:2001 Milk and milk products — Extraction methods for lipids and liposoluble compounds (Молоко и молочные продукты. Методы экстракции липидов и жирорастворимых смесей)

ISO 15884:2002 | IDF 182:2002 Milk fat — Preparation of fatty acid methyl esters (Жир молочный. Приготовление сложных метиловых эфиров жирных кислот)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **ω-3 жирная кислота, омега-3 жирная кислота** (ω-3 fatty acid, omega-3 fatty acid) (Ндп. омега-3 жирная кислота, ω-3 жирная кислота, ω3 жирная кислота): Полиненасыщенная жирная кислота, имеющая первую двойную связь у третьего углерода от конца метиловой группы.

3.2 **ω-6 жирная кислота, омега-6 жирная кислота** (ω-6 fatty acid, omega-6 fatty acid) (Ндп. омега-6 жирная кислота, ω-6 жирная кислота, ω6 жирная кислота): Полиненасыщенная жирная кислота, имеющая первую двойную связь у шестого углерода от конца метиловой группы.

3.3 **содержание ω-3 и ω-6 жирных кислот** (ω-3 and ω-6 fatty acid content): Массовая доля веществ, определенная при помощи методики, установленной в настоящем стандарте.

Примечание — Содержание ω-3 и ω-6 жирных кислот выражают как массовую долю жирных кислот в миллиграммах на 100 г жира, перечисленных в таблице 1.

Издание официальное

Таблица 1 —Вещества, входящие в состав ω-3 и ω-6 жирных кислот

Обозначение длины цепи и двойной связи	Систематическое название	Общепринятое название и/или сокращенный термин
C18:2ω-6	(9Z,12Z)-октадека-9,12-диеновая кислота	Линолевая кислота, LA
C18:3ω-3	(9Z,12Z,15Z)-октадека-9,12,15-триеновая кислота	α-линолевая кислота, α-LNA
C18:4ω-3	(6Z,9Z,12Z,15Z)-октадека-6,9,12,15-тетроеновая кислота	Стеариновая кислота
C20:5ω-3	(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-эйкоза-5,8,11,14,17-пентаеновая кислота	EPA
C22:5ω-3	(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-докоза-7,10,13,16,19-пентаеновая кислота	DPA
C22:6ω-3	(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-докоза-4,7,10,13,16,19-гексаеновая кислота	DHA

4 Сущность метода

Внутренний стандарт добавляют в обезвоженный молочный жир. Метиловые эфиры жирных кислот (FAMEs) получают способом трансэтерификации. FAME разделяют и определяют посредством капиллярно-газовой хроматографии. Содержание отдельных ω-3 и ω-6 жирных кислот определяют методом внутреннего стандарта.

5 Реактивы

В ходе анализа используют реактивы только признанной аналитической чистоты и дистиллированную или деминерализованную воду эквивалентной чистоты.

5.1 **н-Гексан** [$CH_3(CH_2)_4CH_3$].

5.2 **C23:0 (трикозановая) FAME**, чистота: массовая доля 99 %.

5.3 **Стандартный раствор C23:0 FAME**.

Взвешивают примерно 25 мг C23:0 (5.2) в мерной колбе с одной меткой (6.3) вместимостью 25 мл. Разбавляют до метки н-гексаном (5.1) и перемешивают. Стандартный раствор C23:0 можно хранить в холодильнике в течение одного месяца.

5.4 **C20:5ω-3 (EPA) FAME**, чистота: массовая доля 99 %.

5.5 **Стандартный раствор C20:5ω-3 FAME**.

Взвешивают примерно 10 мг C20:5ω-3 (5.4) в мерной колбе с одной меткой (6.3) вместимостью 10 мл. Разбавляют до метки н-гексаном (5.1) и перемешивают.

5.6 **C22:6ω-3 (DHA) FAME**, чистота: массовая доля 99 %.

5.7 **Стандартный раствор C22:6ω-3 FAME**.

Взвешивают примерно 10 мг C22:6ω-3 (5.6) в мерной колбе с одной меткой (6.3) вместимостью 10 мл. Разбавляют до метки н-гексаном (5.1) и перемешивают.

5.8 **C18:2ω-6 (LA) FAME**, чистота: массовая доля 99 %.

5.9 **Стандартный раствор C18:2ω-6 FAME**.

Взвешивают примерно 10 мг C18:2ω-6 (5.8) в мерной колбе с одной меткой (6.3) вместимостью 10 мл. Разбавляют до метки н-гексаном (5.1) и перемешивают.

5.10 **Контрольная смесь,** состоящая из ω-3 и ω-6 жирных кислот, для количественного определения, т. е. идентификации времени удержания.

Контрольная смесь должна содержать FAMEs кислоты, перечисленные в таблице 1, вместе с внутренним стандартом метиловым эфиром C23:0 (5.2). Смесь можно получить, смешав 1 мл каждого из четырех стандартных растворов (5.3, 5.5, 5.7 и 5.9) с 1 мл других трех растворов, приготовленных путем дозирования метиловых эфиров α-линолевой, стеариновой и DPA FAMEs (чистота — не менее массовой доли 80 %) в одинаковой концентрации в н-гексан (1 мг/мл).

Ввиду высокой стоимости некоторых из данных ω-3 FAMEs контрольную смесь можно заменить смесями, имеющимися в продаже (в том числе включая FAMEs). При использовании приобретенной смеси полиненасыщенных FAMEs следует учитывать указанную концентрацию и при необходимости отрегулировать ее при помощи н-гексана. Если такой смеси нет, то следует добавить подходящее количество стандартного раствора C23:0 FAME (5.3).

6 Оборудование

Для проведения измерений используют стандартное лабораторное оборудование.

6.1 **Аналитические весы**, способные взвешивать с точностью до 0,1 мг.

6.2 **Термостат**, обеспечивающий поддержание температурного режима (60 ± 2) °С.

6.3 **Мерные колбы с одной меткой**, вместимостью 10, 25 и 50 мл, класса А по [4].

6.4 **Пипетки с одной меткой**, вместимостью 1 и 5 мл, класса А по [1].

6.5 **Градуированная пипетка**, вместимостью 5 мл, класса А по [3].

6.6 **Аналитическая пробирка**, вместимостью 10 мл, оснащенная крышкой с резьбой, покрытой политетрафторэтиленом.

6.7 **Газожидкостной хроматограф**, оснащенный пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой с инжектором для ввода пробы с разделением потока или непосредственно в колонку.

6.7.1 **Газ-носитель**, водород или гелий, класс чистоты — не менее массовой доли 99,999 %.

6.7.2 **Другие газы**, у которых отсутствует детектируемый след органических примесей (содержание углеводородов менее 1 мг/кг), азот и водород, чистота — не менее массовой доли 99,995 %, и сжатый воздух.

6.7.3 **Капиллярная колонка**, с неподвижной фазой, которая пригодна для выполнения разделения FAMEs.

Рекомендуется использовать капиллярные колонки с полиэтиленгликолевой фазой. Длина колонки 25, 30 или 60 м, у которых внутренний диаметр составляет 0,25 или 0,32 мм, а толщина пленки фазы — 0,12 или 0,25 мкм. Такие колонки элюируют FAMEs, во-первых, по длине углеродной цепи и, во-вторых, по количеству двойных связей. Можно использовать более полярные фазы, например цианосиликоновые неподвижные фазы. При идентификации пиков следует быть очень внимательным. Кроме того, по мере увеличения полярности становится все сложнее обеспечить хорошее разделение C23:0 FAME, принятой в качестве внутреннего стандарта, и C20:5ω-3 FAME.

6.7.4 **Условия для газовой хроматографии.** Температура в термостате и скорость потока газа-носителя зависят от выбранной колонки и принятого газа-носителя. В любом случае выбранные условия должны обеспечивать разделение C18:4ω-3 и C18:2 конъюгированной линолевой кислоты (CLA), а также DPA и DHA (см. рисунках А.1–А.2). См. примеры условий 1 и 2.

Пример 1 — При использовании гелия в качестве газа-носителя и изотермических условий термостата, применяются следующие условия, обеспечивающие надлежащие разделение ω-3 и ω-6 FAMEs:

Газ-носитель:	***Гелий, скорость потока 1,8 мл/мин***	
Давление на входе в колонку:	***120 кПа***	
Колонка:	***Капиллярная колонка из плавленого кварца***	
	Длина:	***30 м***
	Внутренний диаметр:	***0,32 мм***
	Толщина пленки:	***0,25 мкм***
Неподвижная фаза:	***Полиэтиленгликоль***	
Температура колонки:	***200 °С***	
Температура инжектора и детектора:	***260 °С***	
Отношение деления потока:	***100:1***	
Объем вводимой пробы:	***1 мкл***	

Газожидкостная хроматограмма, полученная в данных условиях, представлена на рисунке А.1.

Пример 2 — При использовании водорода в качестве газа-носителя и программируемых условий термостата, применяются следующие условия, обеспечивающие надлежащие разделение ω-3 и ω-6 FAME:

Газ-носитель:	***Водород, постоянная скорость потока 1,2 мл/мин***	
Давление на входе в колонку:	***67 кПа***	
Колонка:	***Капиллярная колонка из плавленого кварца***	
	Длина:	***30 м***
	Внутренний диаметр:	***0,32 мм***
	Толщина пленки:	***0,25 мкм***
Неподвижная фаза:	***(50 % цианопропил)-метилполисилоксан 1***	
Температура колонки:	***Начальная температура 150 °С, поддерживаемая в течение 3 мин***	

Повышается со скоростью 4 °С/мин до 172 °С.
172 °С поддерживается в течение 1 мин.
Повышается со скоростью 8 °С/мин до 210 °С

Температура инжектора и детектора: *240 °С*
Отношение деления потока: *100:1*
Объем вводимой пробы: *1 мкл*

Газожидкостная хроматограмма, полученная в данных условиях, представлена на рисунке А.2.

6.7.5 **Пламенно-ионизационный детектор**, обеспечивающий температурный режим на 30 °С выше окончательной температуры термостата.

6.7.6 **Инжектор с разделением потока**, обеспечивающий температурный режим на 30 °С выше окончательной температуры термостата.

Примечание — Для успешного выполнения данного анализа также можно использовать систему ввода пробы непосредственно в колонку. В данном случае подходящее разбавление пробы н-гексаном выполняют до ее ввода (например, 1 мл раствора, приготовленного по 9.2, разбавляют 9 мл н-гексана).

6.7.7 **Шприцы для ввода пробы**, вместимостью 1 мкл или 5 мкл.

6.7.8 **Системы интеграции данных**, желательно компьютеризированная.

7 Отбор проб

В лабораторию должна быть доставлена представительная проба. Во время транспортирования и хранения не допускается какое-либо ее изменение или порча.

Отбор проб не является частью метода, установленного в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в [2].

8 Подготовка пробы для анализа

Обезвоженный молочный жир получают в соответствии с ISO 14156 | IDF 172, при этом обеспечивают полное удаление экстракционного раствора. Для этого нагревают жир до температуры не выше 60 °С, чтобы не допустить разложение полиненасыщенных жирных кислот.

9 Проведение испытания

9.1 Калибровочный раствор для определения коэффициента чувствительности LA, EPA и DHA

Переносят пипеткой (6.4) 1 мл стандартного раствора EPA FAME (5.5), 1 мл стандартного раствора DHA FAME (5.7), 1 мл стандартного раствора LA FAME (5.9) и 1 мл раствора внутреннего стандарта C23:0 FAME (5.3) в аналитическую пробирку (6.6) и перемешивают.

9.2 Рабочая часть пробы

Пробу для анализа (раздел 8) расплавляют при 50 °С. Встряхивают расплавленную пробу в течение 1 мин, чтобы она стала однородной консистенции. Взвешивают 100 мг однородной пробы в аналитическую пробирку (6.6) с точностью до 1 мг.

До подготовки FAMEs в соответствии с ISO 15884 | IDF 182, отбирают пипеткой (6.4) 1 мл стандартного раствора C23:0 FAME (5.3). Добавляют 4 мл н-гексана вместо 5 мл, указанных в ISO 15884 | IDF 182. Внутренний стандарт (C23:0 FAME) содержит примерно 1 % жира. Рекомендуется определять ω-3 и ω-6 жирные кислоты с массовой долей 0,5 % — 4 % (т. е. продукты с добавлением рыбьего жира).

Если концентрация одной или нескольких ω-3 и ω-6 жирных кислот выше массовой доли 4 % (т. е. продукты, в которые добавлено льняное масло), то следует увеличить концентрацию C23:0 FAME. В данном случае добавление 5 мл н-гексана, описанное в ISO 15884 | IDF 182, следует заменить на добавление 5 мл раствора C23:0 FAME (5.3).

В конце процедуры метилирования переносят 2 мл чистой жидкости над поверхностью осадка в аналитическую пробирку (6.6) или прямо в автоматический пробоотборник. Данный раствор готов для газохроматографического анализа или может храниться в холодильнике до 2 дн.

9.3 Качественное определение

Вводят 1 мкл градуировочной смеси (5.10) в газовый хроматограф. Регистрируют значения времени удержания пиков, относящихся к внутреннему стандарту C23:0, LA, α-LNA, стеариновой кислоте, EPA, DPA и DHA.

9.4 Количественное определение

9.4.1 Расчет факторов чувствительности

9.4.1.1 Вводят в газовый хроматограф 1 мкл калибровочного раствора (9.1). Определяют площадь пиков, относящихся к FAMEs C23:0, LA, EPA и DHA.

9.4.1.2 Рассчитывают коэффициент чувствительности $f_{r\omega}$ FAMEs LA, EPA и DHA соответственно по формуле (1):

$$f_{r\omega} = \frac{m_\omega w_\omega A_{C23:0}}{m_{C23:0}\, w_{C23:0}\, A_\omega}, \quad (1)$$

где $A_{C23:0}$ — площадь пика C23:0 FAME (9.4.1.1);

A_ω — площадь пика FAME LA, EPA или DHA (9.4.1.1);

$m_{C23:0}$ — масса в миллиграммах C23:0 FAME в калибровочном растворе (9.1);

m_ω — масса в миллиграммах FAME LA, EPA или DHA в калибровочном растворе (9.1);

$w_{C23:0}$ — чистота, выраженная как массовая доля в миллиграммах на миллиграмм C23:0 FAME (5.2), например $w_{C23:0} = 0{,}99$;

w_ω — чистота, выраженная как массовая доля в миллиграммах на миллиграмм стандартных FAME LA, EPA или DHA (5.4, 5.6 или 5.8), например $w_\omega = 0{,}99$.

9.4.2 Определение рабочей части пробы

Вводят 1 мкл рабочей части пробы, подготовленной по (9.2) в газовый хроматограф, при этом применяют те же условия, которые использовались для калибровочного раствора. Определяют площадь пиков, относящихся к FAMEs внутреннего стандарта C23:0, LA, α-LNA, стеариновой кислоты, EPA, DPA и DHA.

Повторяют ввод калибровочного раствора и расчет $f_{r\omega}$ (9.4.1.2).

9.5 Расчет и представление результатов

9.5.1 Используя результаты калибровочного раствора (9.1), введенного до и после анализа рабочей части пробы, рассчитывают средние коэффициенты чувствительности $\bar{f}_{ri}$ для FAMEs LA, EPA и DHA, стандартное отклонение и коэффициент отклонения значений. При успешном определении получают коэффициенты отклонения менее 2.

Примечание — Коэффициент чувствительности, рассчитанный для EPA FAME, также применяется для известных FAMEs α-линолевой и стеариновой кислот, а рассчитанные для DHA FAME применяются к DPA FAME.

9.5.2 Рассчитывают массовую долю каждой ω-3 и ω-6 жирной кислоты в рабочей части пробы w_i, мг/100 г жира, по формуле (2):

$$w_i = \frac{m_{C23:0} w_{C23:0} A_i \bar{f}_{ri}}{A_{C23:0}\, m_s} \cdot 100000, \quad (2)$$

где $A_{C23:0}$ — площадь пика C23:0 FAME (9.4.2);

A_i — площадь пика каждого ω-3 и ω-6 FAME в рабочей части пробы (9.4.2);

$\bar{f}_{ri}$ — средний коэффициент чувствительности для каждого FAME ω-3 и ω-6 (9.5.1);

m_s — масса рабочей части пробы (9.2), мг;

$m_{C23:0}$ — масса стандартного раствора C23:0 FAME в рабочей части пробы (9.2), мг;

$w_{C23:0}$ — чистота, выраженная как массовая доля, мг/мг стандартного C23:0 FAME (5.2), например, $w_{C23:0} = 0{,}99$.

9.6 Выражение результатов

Результаты выражают с точностью до одной сотой.

10 Прецизионность

Значения повторяемости и воспроизводимости были выведены из результатов межлабораторных испытаний, проведенных в соответствии с [5] и [6], и приведены в приложении В.

Значения пределов повторяемости и воспроизводимости выражают относительно уровня вероятности 95 %, и эти значения не могут быть применимы к иным интервалам концентрации и матрицам, кроме приведенных.

10.1 Повторяемость

Абсолютная разность между двумя отдельными единичными результатами испытаний, полученными в результате применения одного и того же метода при исследовании идентичного анализируемого материала в той же лаборатории одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени, может превышать среднее значение на 4,3 % при содержании ω-3 и ω-6 жирных кислот от 200 до 9000 мг/100 г жира не более чем в 5 % случаев.

10.2 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя единичными результатами испытаний, полученными в результате применения одного и того же метода при исследовании идентичного анализируемого материала в разных лабораториях с различными операторами, использующими различное оборудование, может превышать среднее значение на 25,3 % при содержании ω-3 и ω-6 жирных кислот от 200 до 9000 мг/100 г жира не более чем в 5 % случаев.

11 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать следующие данные:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

b) метод отбора проб, если известен;

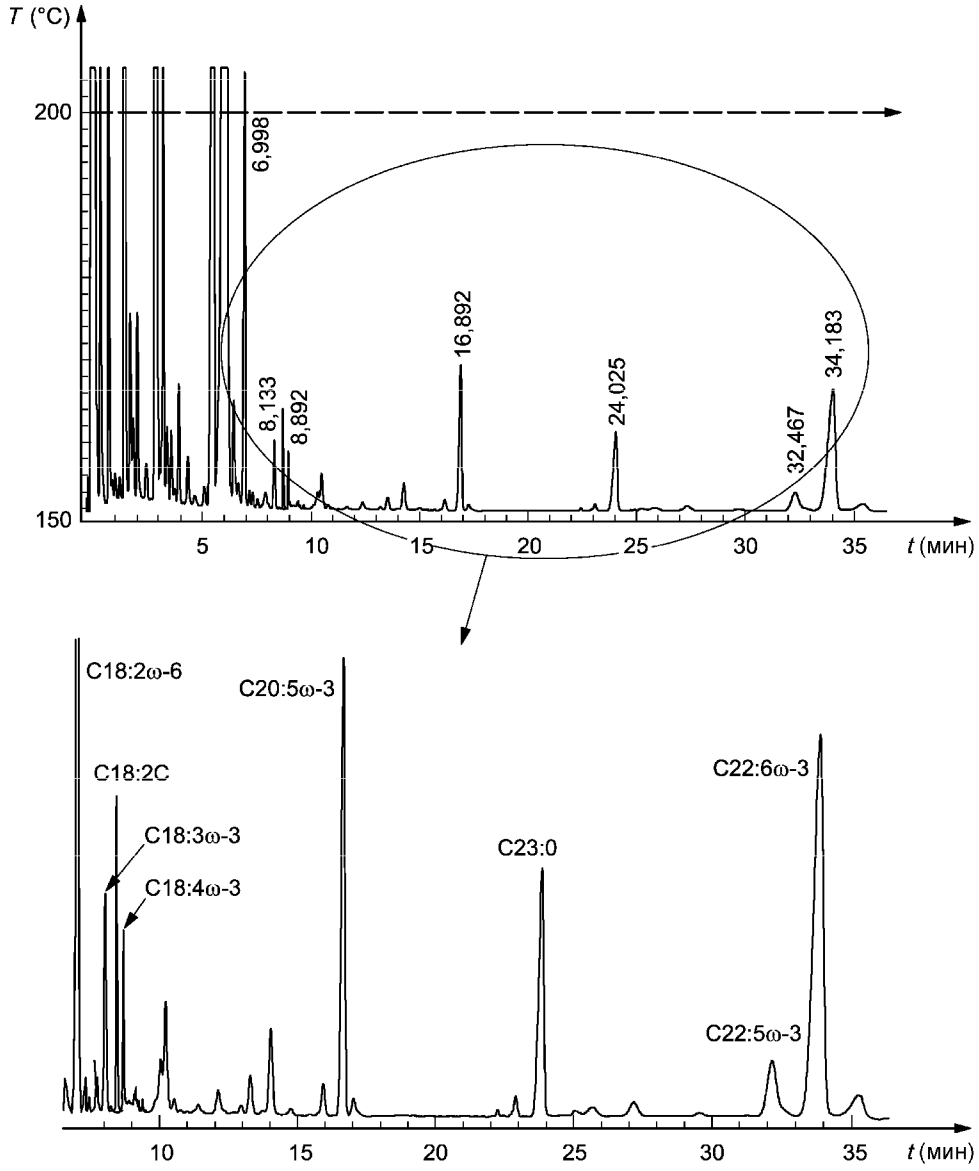
c) применяемый метод испытания, всегда со ссылкой на настоящий стандарт;

d) любые особенности, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как дополнительные, а также сведения о любых происшествиях, которые могли повлиять на результат (ы) испытаний;

e) результат (ы) испытаний или, если проводилась проверка повторяемости, то окончательный полученный результат.

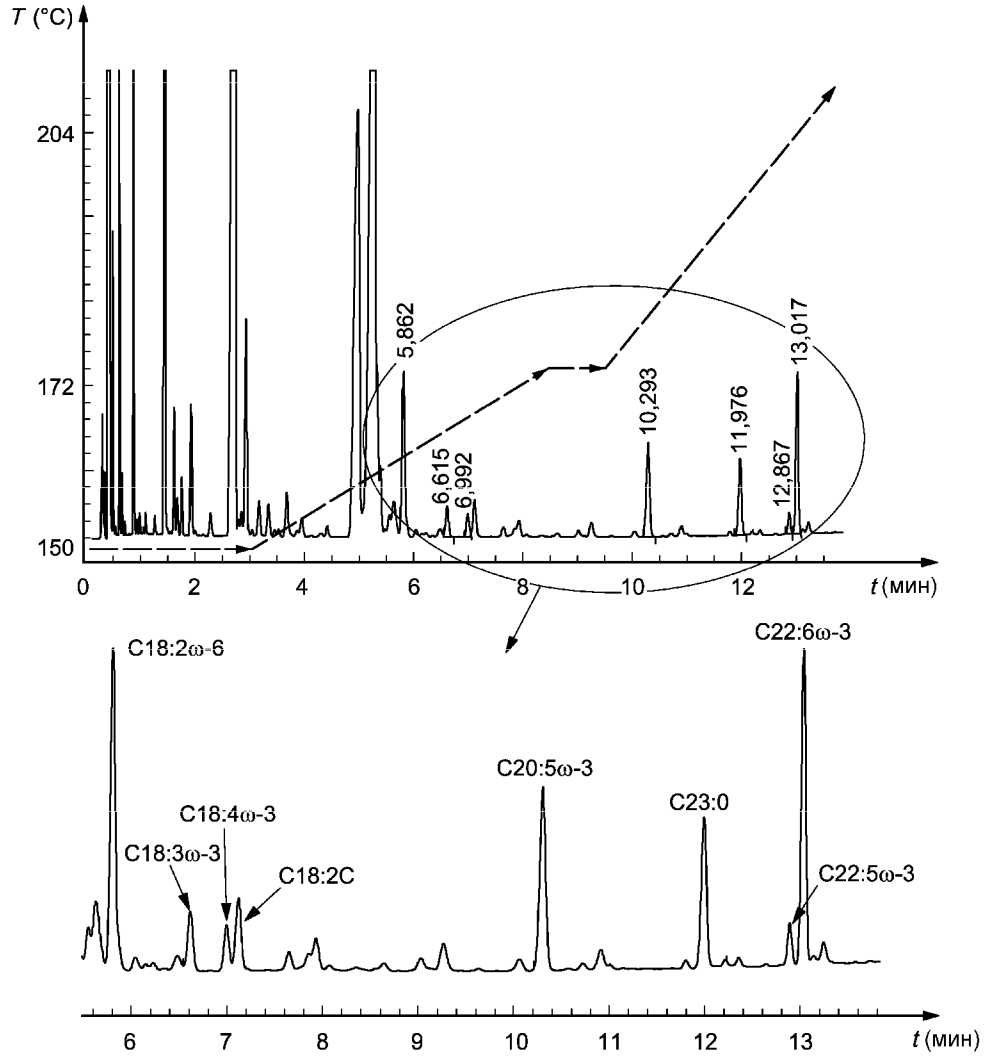
Приложение А
(справочное)

Примеры газо-жидкостного хроматографического анализа



C18:2C — FAME конъюгированной линолевой кислоты;
C18:2ω-6 — FAME линолевой кислоты;
C18:3ω-3 — FAME α-линолевой кислоты;
C18:4ω-3 — FAME стеариновой кислоты;
C20:5ω-3 — FAME эйкозапентаеновой кислоты;
C22:5ω-3 — FAME докозапентаеновой кислоты;
C22:6ω-3 — FAME докозагексаеновой кислоты;
C23:0 — FAME трикозановой кислоты (стандарт для калибровки);
T — температура термостата;
t — время

Рисунок А.1 — Газожидкостная хроматограмма FAME, включая увеличенное изображение зоны элюирования пиков ω-3, ω-6 и CLA при условиях, указанных в 6.7.4. Пример 1



C18:2C — FAME конъюгированной линолевой кислоты;
C18:2ω-6 — FAME линолевой кислоты;
C18:3ω-3 — FAME α-линолевой кислоты;
C18:4ω-3 — FAME стеариновой кислоты;
C20:5ω-3 — FAME эйкозапентаеновой кислоты;
C22:5ω-3 — FAME докозапентаеновой кислоты;
C22:6ω-3 — FAME докозагексаеновой кислоты;
C23:0 — FAME трикозановой кислоты (стандарт для калибровки);
T — температура термостата;
t — время

Рисунок А.2 — Газожидкостная хроматограмма FAME, включая увеличенное изображение зоны элюирования пиков ω-3, ω-6 и CLA при условиях, указанных в 6.7.4. Пример 2

Приложение В
(справочное)

Межлабораторные исспытания

Шесть проб обезвоженного жира (три пробы в холостом исследовании, проводимом дважды), содержащие 8 %, 10 % и 12 % рыбьего жира и шесть проб обезвоженного жира (три пробы в холостом исследовании, проводимом дважды), содержащие 8 %, 12 % и 16 % льняного масла, были подготовлены и направлены в 17 лабораторий, участвующих в исследовании. Анализ организован и оценен экспериментальным институтом молочной промышленности CRA — FLC (Италия).

Независимо от типа кислоты была проведена статистическая оценка результатов, основанная на массовой доле, выраженной в миллиграммах на 100 г жира. Исходя из этой оценки было обнаружено восемь различных уровней.

Статистический анализ полученных результатов был проведен в соответствии с [6] в целях получения данных по прецизионности, представленных в таблице В.1.

Примечание — Подробные описания обоих экспериментов и межлабораторных исследований приведены в [7].

Таблица В.1 — Результаты межлабораторных испытаний

Уровень	1	2	3	4	5	6	7	8
Среднее значение, $\overline{w}_i$	233,4	513,2	1290,4	2039,6	3687,3	4385,2	6619,8	8749,8
Стандартное отклонение повторяемости s_r	7,23	10,61	23,59	43,67	58,94	53,14	130,40	113,93
Коэффициент вариации повторяемости CV(r), %	3,10	2,07	1,83	2,14	1,60	1,21	1,97	1,30
$s_r = b_r \cdot \overline{w}_i$	Коэффициент регрессии, b_r = 0,015·3							
Предел повторяемости r (= 2,8·s_r) = (2,8·b_r·$\overline{w}_i$)	0,043·$\overline{w}_i$ (4,3 % среднего значения)							
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	20,37	48,82	75,35	180,29	318,12	390,49	625,88	786,17
Коэффициент вариации воспроизводимости CV(R), %	8,73	9,51	5,84	8,84	8,63	8,90	9,45	8,98
$s_R = b_R \cdot \overline{w}_i$	Коэффициент регрессии b_R = 0,090 4							
Предел воспроизводимости R (= 2,8·s_R) = (2,8·b_R·$\overline{w}_i$)	0,253·$\overline{w}_i$ (25,3 % среднего значения)							

Библиография

[1] ISO 648:2008 — Laboratory glassware — Single-volume pipettes
(Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной меткой)

[2] ISO 707:2008 I IDF 50:2008 — Milk and milk products — Guidance on sampling
(Молоко и молочные продукты. Руководства по отбору проб

[3] ISO 835:2007 — Laboratory glassware — Graduated pipettes
(Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки мерные градуированные)

[4] ISO 1042:1998 — Laboratory glassware — One-mark volumetric flasks
(Посуда лабораторная стеклянная. Колбы мерные с одной меткой)

[5] ISO 5725-1:1994 — Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions
(Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения)

[6] ISO 5725-2:1994 — Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method
(Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений и результатов. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений)

[7] Contarini, G. Bull. Int. Dairy Fed. 2008, (428), pp. 1–17
(Определение содержания омега-3 и омега-6 жирных кислот методом газожидкостной хроматографии в молочном жире из обогащенных продуктов)

УДК 637.12.055:543.422.7(083.74)(476) МКС 07.100.30; 67.100.10 IDT

Ключевые слова: полиненасыщенная жирная кислота, омега-3 (ω-3) и омега-6 (ω-6), массовая доля веществ, пробы, методы отбора проб, метод анализа

Ответственный за выпуск *Н. А. Баранов*

Сдано в набор 26.02.2016. Подписано в печать 29.02.2016. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 1,74 Уч.-изд. л. 0,74 Тираж 2 экз. Заказ 565

Издатель и полиграфическое исполнение:
Научно-производственное республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/303 от 22.04.2014
ул. Мележа, 3, комн. 406, 220113, Минск.

gost.e-ecolog.ru