ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСТ ISO 18252-2014

ЖИР МОЛОЧНЫЙ ОБЕЗВОЖЕННЫЙ

Определение стеринового состава методом газожидкостной хроматографии (стандартный метод)

ТЛУШЧ МАЛОЧНЫ АБЯЗВОДЖАНЫ

Вызначэнне стэрынавага саставу метадам газавадкаснай храматаграфіі (стандартны метад)

(ISO 18252:2006, IDT)
(IDF 200:2006, 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—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» и Межгосударственным техническим комитетом МТК 534 «Обеспечение безопасности сельскохозяйственной продукции и продовольственного сырья на основе принципов HACCP»

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 46 от 5 декабря 2014 года)

За принятие стандарта 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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 18252:2006|IDF 200:2006 Anhydrous milk fat — Determination of sterol composition by gas liquid chromatography (Routine method) (Жир молочный обезвоженный. Определение стеринового состава методом газожидкостной хроматографии (Стандартный метод)

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

Перевод с английского языка (en)

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которых подготовлен настоящий межгосударственный стандарт и стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Национальном фонде ТНПА.

В разделе «Нормативные ссылки» ссылки на международные стандарты актуализированы.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам приведены в приложении Д.А.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

5 ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 15 июня 2016 г. № 42 непосредственно в качестве государственного стандарта Республики Беларусь с 1 июня 2017 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© Госстандарт, 2016

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

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.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ЖИР МОЛОЧНЫЙ ОБЕЗВОЖЕННЫЙ
определение стеринового состава методом газожидкостной хроматографии (стандартный метод)

ТЛУШЧ МАЛОЧНЫ АБЯЗВОДЖАНЫ
Вызначэнне стэрынавага саставу метадам газавадкаснай храматаграфіі (стандартны метад)

Anhydrous milk fat
Determination of sterol composition by gas liquid chromatography (routine method)

Дата введения — 2017-06-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает определение стеринового состава неомыляемого остатка обезвоженного молочного жира, извлеченного из молочных продуктов непосредственно без очищения и обработки, методом газожидкостной хроматографии (стандартный метод).

Метод заключается в количественном определении холестерина, который составляет около 98 % стериновой фракции чистого молочного жира. При определении молочного жира в смеси растительных жиров, указанная процедура позволяет провести оценку наиболее важных стеринов. Порядок проведения испытания подтвержден для проб молочного жира, содержащего от 28 % до 32 % растительного жира.

Из-за отсутствия этапа очищения, позволяющего полностью удалить мешающие соединения из неомыляемого остатка, следует соблюдать осторожность при применении этого метода, в частности, для проверки чистоты молочного жира неизвестного происхождения. В спорных случаях может использоваться эталонный метод, описанный в [5].

Примечание — Использование настоящего стандарта должно осуществляться с соблюдением требований техники безопасности при работе с опасными материалами и оборудованием. Настоящий стандарт не имеет целью рассмотрение всех проблем, касающихся безопасности, связанных с его использованием. Установление требований по охране труда и технике безопасности, а также определение применимости нормативных ограничений является ответственностью пользователя.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные документы. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного документа:

ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

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 соединений).

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 содержание стериновых соединений (sterol composition): Массовая доля веществ, определяемая процедурой, указанной в настоящем стандарте.

Примечание — Содержание стериновых соединений может выражаться в миллиграммах на 100 г жира или в процентах общего стеринового содержания.

Издание официальное

4 Сущность метода

5α-холестан добавляют к испытуемой пробе в качестве внутреннего стандарта. Жир омыляется метанольным раствором гидроксида калия. Неомыляемый остаток экстрагируют диэтиловым эфиром. Его концентрируют и определяют капиллярной газожидкостной хроматографией. Отдельные стерины идентифицируются путем сравнения со временем удерживания стандартного образца. Количественное определение стеринов выполняют методом внутреннего стандарта.

5 Реактивы

Использовать реактивы с характеристиками не ниже чем «чистый для анализа».

5.1 Вода, соответствующая классу 2 в соответствии с ISO 3696.

5.2 Этанол (C_2H_5OH) чистый.

5.3 Метанол (CH_3OH), содержащий массовую долю воды ≤ 0,5 %.

5.4 Омыляющий реагент, метанольный раствор едкого калия с (KOH) = 2 моль/л.

Растворить 11,2 грамм KOH в 100 мл метанола (см. 5.3) и тщательно перемешивают.

5.5 Сульфат натрия (Na_2SO_4) безводный.

5.6 Диэтиловый эфир ($C_2H_5OC_2H_5$) без пероксидов.

5.7 *н*-Гексан [$CH_3(CH_2)_4CH_3$].

5.8 5α-Холестан чистотой 99 %.

5.9 Стандартный раствор 5α-холестана.

Взвесить 60 мг 5α-холестана (см. 5.8) с точностью до 0,001 г и перенести в мерную колбу вместимостью 100 мл (см. 6.4). Довести до метки смесью *н*-гексана (см. 5.7) с этанолом (см. 5.2) в соотношении 1:10 или *н*-гексаном (см. 5.7) и перемешать.

Стандартный раствор 5α -холестана можно хранить в холодильнике в течение одного месяца.

5.10 Холестерин чистотой 99 %.

5.11 Стандартный раствор холестерина.

Точно отвесить 60 мг холестерина (см. 5.10) в мерную колбу с одной меткой на 100 мл (см. 6.4). Довести до метки этанолом (см. 5.2) или *н*-гексаном (см. 5.7) и перемешать.

Стандартный раствор холестерина можно хранить в холодильнике в течение одного месяца.

5.12 Кампестерин чистотой 65 %.

5.13 Стандартный раствор кампестерина.

Точно отвесить 10 мг кампестерина (см. 5.12) в мерную колбу с одной меткой на 100 мл (см. 6.4). Довести до метки *н*-гексаном (см. 5.7) и перемешать.

Стандартный раствор кампестерина можно хранить в холодильнике в течение одного месяца.

5.14 Стигмастерин чистотой 95 %.

5.15 Стандартный раствор стигмастерина.

Точно отвесить 10 мг стигмастерина (см. 5.14) в мерную колбу на 100 мл (см. 6.4). Довести до метки *н*-гексаном (см. 5.7) и перемешать.

Стандартный раствор стигмастерина можно хранить в холодильнике в течение месяца.

5.16 β-Ситостерин чистотой 95 %.

5.17 Стандартный раствор β-ситостерина.

Точно взвесить 10 мг β-ситостерина (см. 5.16) и перенести мерную колбу вместимостью 100 мл с одной меткой (см. 6.4). Довести до метки *н*-гексаном (см. 5.7) и перемешать.

Стандартный раствор β-ситостерина можно хранить в холодильнике в течение одного месяца.

Примечание — Так как стандартные растворы фитостерина (см. 5.13, 5.15 и 5.17) используются только для качественной оценки, они могут быть заменены на стерины, приготовленные из соевого масла, основными компонентами которого являются кампестерин, стигмастерин и β-ситостерин.

6 Аппаратура и материалы

Примечание — Так как определение включает в себя использование летучих воспламеняющихся растворителей, применяемая электрическая аппаратура должна соответствовать требованиям техники безопасности при работе такими растворителями.

Общепринятое лабораторное оборудование и, в частности, нижеследующее.

6.1 Сушильный шкаф, в котором может поддерживаться температура от 50 °C до 70 °C.

6.2 Аналитические весы специального класса I.

6.3 Круглодонные колбы с пришлифованными пробками вместимостью 100 мл.

6.4 Мерные колбы с одной меткой вместимостью 100 мл.

6.5 Градуированные пипетки вместимостью 10 мл.

6.6 Пипетки с одной меткой вместимостью 1 мл.

6.7 Водяная баня, в которой может поддерживаться температура (50 ± 2) °С, а также кипение.

6.8 Дефлегматор с размером шлифа, соответствующим горлышку колбы (см. 6.3).

6.9 Делительные воронки вместимостью 100 мл.

6.10 Диспенсер растворителя или градуированные цилиндры вместимостью 10 мл и 20 мл.

6.11 Аппарат для перегонки или выпаривания (например, ротационный вакуум-испаритель) для дистилляции или выпаривания растворителей, поддерживающий все температуры вплоть до кипения.

6.12 Стеклянные воронки диаметром 100 мм.

6.13 Сухая фильтровальная бумага сложенная светочувствительная диаметром 200 мм.

6.14 Колбы конические вместимостью 5 мл и 10 мл.

6.15 Редуктор азота, дающий чистоту газа не менее 99 %.

6.16 Пробирка с завинчивающейся пробкой, имеющая покрытие из политетрафторэтилена, вместимостью 50 мл.

6.17 Оборудование газожидкостной хроматографии

6.17.1 Инжектор

Инжектор парообразующего типа (с делением потока/без деления потока), оснащенный термоустойчивой септой, при температуре на 30 °С выше максимальной температуры термостата. В случае холодного инжектора для ввода проб непосредственно в колонку, поддерживают температуру инжектора на несколько градусов ниже температуры кипения растворителя.

6.17.2 Термостат с рабочим диапазоном от 50 °С до 320 °С.

6.17.3 Колонка, капиллярная кварцевая колонка.

Для разделения стерина могут применяться различные виды неподвижной фазы, различные параметры толщины пленки, длины колонки и ее диаметры. В любом случае выбранная колонка должна давать как полное разделение между пиками растворителя и 5α-холестана (т. е., 5α-холестан должен не элюироваться вместе с растворителем), так и полное разделение пиков до базовой линии между пиками холестерина, кампестерина, стигмастерина и β-ситостерина. Более того, во время всего газохроматографического (ГХ) анализа не должен наблюдаться унос неподвижной фазы в виде дрейфа базовой линии.

Пример правильной газохроматографической характеристики, полученный с применением эксплуатационных условий, представленных в 6.18.2, приведен в приложении А.1.

Примечание — Применимы неподвижные фазы, имеющиеся в продаже, содержащие диметилполисилоксан или диметилполисилоксан с разным содержанием фенил/цианопропил-полисилоксана.

6.17.4 Пламенно-ионизационный детектор, который может нагреваться до температуры на 30 °С выше конечной температуры термостата колонок.

6.17.5 Газ-носитель: азот, гелий или водород, чистотой не менее 99,999 %.

6.17.6 Другие газы без органических включений (C_nH_m менее 1 части на миллион): азот и водород, чистотой не менее 99,995 %.

6.17.7 Инъекционный шприц вместимостью от 1 мкл до 10 мкл.

6.17.8 Система интеграции, предпочтительно компьютеризированная.

6.18 Условия газожидкостной хроматографии

Соблюдать инструкции производителя относительно установки прибора. Температура термостата и поток газа-носителя зависят от выбранной колонки и принятой системы ввода пробы. В примерах, представленных ниже, описаны применимые условия для систем ввода пробы с делением потока и вводом пробы непосредственно в колонку.

6.18.1 Инжектор для ввода проб с делением потока

Пример применимых условий с использованием инжектора для ввода проб с делением потока:

a) Газ-носитель:	гелий;
b) Давление на входе в колонку:	90 кПа;
c) Колонка:	капиллярная кварцевая колонка длиной 25 м, с внутренним диаметром 0,32 мм, с толщиной пленки 0,25 мкм;
d) Неподвижная фаза:	5 % фенил и 95 % диметилполисилоксан;

e) Температура колонки: изотермическая, установить на 280 °С;
f) Температура детектора: установить на 310 °С;
g) Температура инжектора: установить на 310 °С;
h) Отношение деления потока: отношение 1:40;
i) Объем вводимой пробы: 0,5 мкл.

6.18.2 Инжектор для ввода проб непосредственно в колонку

Пример применимых условий с использованием инжектора для ввода проб непосредственно в колонку:

a) Газ-носитель: водород;
b) Давление на входе в колонку: 30 кПа;
c) Колонка: капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, с внутренним диаметром 0,32 мм, с толщиной пленки 0,25 мкм;
d) Неподвижная фаза: 5 % фенил и 95 % диметилполисилоксан;
e) Температура колонки: установить начальную температуру на 60 °С на 2 мин, установить первый градиент 40 °С в минуту, остановить температуру 220 °С на 2 мин, установить второй градиент 5 °С в минуту; остановить температуру 310 °С;
f) Температура детектора: 330 °С;
g) Объем вводимой пробы: 1 мкл.

7 Отбор проб

В лабораторию следует отправлять представительную пробу. Она не должна быть повреждена или изменена во время транспортировки и хранения.

Отбор проб не является частью метода, указанного в настоящем стандарте. Отбор проб проводится по [1].

8 Приготовление испытуемой пробы

Испытуемую пробу готовят в соответствии с порядком проведения испытаний по ISO 14156|IDF 172. Растопить пробу в сушильной печи (см. 6.1) при температуре 50 °С.

9 Методика

9.1 Стандартные растворы стеринов

9.1.1 Калибровочные растворы для определения коэффициента отклика холестерина

Перенести пипеткой с одной меткой (см. 6.6) 1 мл стандартного раствора холестерина (см. 5.11) в колбу на 5 мл (см. 6.14). Добавить другой пипеткой с одной меткой (см. 6.6) 1 мл стандартного раствора 5α-холестана (в качестве внутреннего стандарта) (см. 5.9) и перемешать. Удалить растворители слабым током азота при нагревании на водяной бане (см. 6.7) при температуре 50 °С.

9.1.2 Качественный раствор для определения времени удерживания стерина

Перенести пипеткой с одной меткой (см. 6.6) 1 мл каждого из стандартных растворов стерина, приготовленных в 5.11, 5.13, 5.15 и 5.17 соответственно, в колбу на 10 мл (см. 6.14). Добавить другой пипеткой с одной меткой (см. 6.6) по 1 мл стандартного раствора 5α-холестана (в качестве внутреннего стандарта) (см. 5.9) и перемешать. Удалить растворители слабым током азота.

При анализе стандартных растворов соевого масла используют ту же процедуру, как и для пробы в 9.2.

9.2 Подготовка пробы

Встряхивать расплавленную испытуемую пробу для испытаний (см. раздел 8) в течение 1 мин с целью получения гомогенной пробы. Взвесить 200 мг испытуемой пробы, приготовленной таким образом, с точностью до 1 мг, и перенести в круглодонную колбу (см. 6.3).

9.3 Омыление

Добавить пипеткой с одной меткой (см. 6.6) 1 мл стандартного раствора 5α-холестана и 10 мл омыляющего реагента (см. 5.4) к пробе (см. 9.2). Присоединить круглодонную колбу к дефлегматору (см. 6.8). Нагревать на водяной бане (см. 6.7) при температуре 80 °С в течение 1 ч.

Примечание — При вскипании, следует добавлять антивскипающие гранулы.

9.4 Извлечение неомыляемого остатка

Охладить круглодонную колбу до 35 °С. Количественно перенести испытуемый раствор в делительную воронку (см. 6.9). Добавить 10 мл диэтилового эфира (см. 5.6) и 20 мл дистиллированной воды. Использовать часть каждого из ранее упомянутых растворителей для ополаскивания колбы во избежание потерь пробы. Тщательно встряхивать при частом дегазировании. Дать слоям разделиться и полностью стать прозрачными.

Слить нижний водный слой во вторую делительную воронку (см. 6.9). Извлечь полученный мыльный раствор 10 мл диэтилового эфира (см. 5.6) так же, как указано в первом абзаце. Провести третью экстракцию 5 мл диэтилового эфира.

Объединить эфирные экстракты в другой делительной воронке (см. 6.9). Добавить 10 мл воды и осторожно встряхивать (энергичное встряхивание на этом этапе может привести к образованию эмульсии). После разделения слоев слить слой воды. Два раза промыть эфирный раствор по 5 мл воды. Если во время промывания образуется эмульсия, добавить несколько капель этанола (см. 5.2).

Вставить сложенную фильтровальную бумагу (см. 6.13), заполненную 10 г сульфата натрия (см. 5.5), в стеклянную воронку (см. 6.12). Эфирный раствор фильтровать через сульфат натрия в круглодонную колбу (см. 6.3). Промыть делительную воронку 5 мл диэтилового эфира (см. 5.6). Удалить растворитель соответствующим прибором (см. 6.11) при осторожном нагревании при 50 °С. Добавить 2 мл диэтилового эфира (см. 5.6) градуированной пипеткой (см. 6.5) и перемешать. Количественно перенести неомыляемый остаток в колбу (см. 6.14). Повторить промывание колбы 1 мл диэтилового эфира (см. 5.6). Удалить растворитель из колбы слабым током азота. Растворить остаток в 0,25 мл *н*-гексана (см. 5.7) при использовании инжектора для ввода проб с делением потока и в 3 мл *н*-гексана при использовании инжектора для ввода проб непосредственно в колонку. Испытуемый раствор, полученный таким образом, готов для ввода в газовый хроматограф.

9.5 Качественный анализ

Растворить высушенный стандартный раствор стерина (см. 9.1.2) таким же количеством *н*-гексана (см. 5.7), которое используется в 9.4, и перемешать. Ввести полученный раствор в газовый хроматограф. Записать время удерживания эталонных стеринов. Анализировать пробу (см. 9.2) при таких же условиях, как для стандартного раствора стерина.

Примечание 1 — Порядок проведения элюирования основных стеринов следующий: холестерин, кампестерин, стигмастерин и β-ситостерин. Внутренний стандарт 5α-холестан элюирует перед холестерином. Хроматограмма для идентификации этих стеринов представлена на рисунке А.1.

Примечание 2 — Если для идентификации фитостеринов используется соевое масло, анализ калибровочного раствора (см. 9.1.1) может позволить определить время удерживания холестерина.

Идентифицировать пики испытуемой пробы путем сравнения данных по удерживанию, полученных при анализе стандартного раствора стерина.

9.6 Количественный анализ

9.6.1 Расчет коэффициента отклика

Растворить калибровочный раствор (см. 9.1.1) в таком же количестве *н*-гексана (см. 5.7), которое используется в 9.4 и перемешать. Ввести полученный раствор в газовый хроматограф. Определить площадь пиков, относящихся к 5α-холестану и холестерину. Рассчитать коэффициент отклика F_r, выраженный с точностью до двух десятичных знаков, по следующей формуле

$$F_r = \frac{(m_c \cdot P_c) \cdot A_{5\alpha}}{(m_{5\alpha} \cdot P_{5\alpha}) \cdot A_c}, \quad (1)$$

где m_c — масса холестерина в калибровочном растворе (см. 9.1.1);

$m_{5\alpha}$ — масса 5α-холестана в калибровочном растворе (см. 9.1.1);

$A_{5\alpha}$ — площадь пика 5α-холестана;

A_c — площадь пика холестерина;

P_c — чистота холестерина (см. 5.10), (P_c = 0,99);

$P_{5\alpha}$ — чистота 5α-холестана (см. 5.8), ($P_{5\alpha}$ = 0,99).

Примечание — Коэффициент отклика для других стеринов (кампестерина, стигмастерина и β-ситостерина) рассчитывается по аналогии с холестерином.

9.6.2 Анализ пробы

Исследовать пробу, взятую для анализа, при таких же условиях, что и калибровочный раствор. Определить площадь пиков, относящихся к 5α-холестану, холестерину и другим стеринам, если они присутствуют.

Повторить введение калибровочного раствора и расчет F_r, как описано в 9.6.1.

9.6.3 Расчет и выражение результатов

9.6.3.1 Расчет массовой доли стеринов

Рассчитать средний коэффициент отклика для каждого стерина $F_{r,a}$, среднеквадратическое отклонение и коэффициент вариации (должен быть менее 2).

Рассчитать массовую долю каждого стерина w_i по формуле

$$w_i = \frac{(m_{5\alpha} \cdot P_{5\alpha}) \cdot A_i \cdot F_{r,a}}{A_{5\alpha} \cdot m_s} \cdot 100, \quad (2)$$

где w_i — массовая доля каждого стерина (холестерин, кампестерин, стигмастерин, β-ситостерин) в пробе, мг/100 г жира;

$m_{5\alpha}$ — масса стандартного раствора 5α-холестана, добавленного к пробе, взятой для анализа, мг (см. 9.3);

$P_{5\alpha}$ — чистота 5α-холестана (см. 5.8), ($P_{5\alpha}$ = 0,99);

A_i — площадь пика соответствующего стерина в пробе, взятой для анализа (см. 9.6.2);

$F_{r,a}$ — среднее значение коэффициента отклика для соответствующего стерина;

$A_{5\alpha}$ — площадь пика 5α-холестана (см. 9.6.2);

m_s — масса пробы, взятой для анализа, г (см. 9.2).

9.6.3.2 Расчет массовой доли каждого стерина от общего количества стеринов, в процентах

Рассчитать массовую долю каждого стерина w_i от общего количества стеринов, в процентах, используя формулу

$$w_i = \frac{A_i \cdot F_{r,a}}{\sum(A_i \cdot F_{r,a})} \cdot 100\ \%, \quad (3)$$

9.6.3.3 Выражение результатов

Результаты выражают с точностью до одного десятичного знака.

10 Точность

10.1 Межлабораторное испытание

Детали межлабораторного испытания в соответствии с [2] и [3] по точности настоящего метода суммированы в приложении В.

Значения пределов сходимости и воспроизводимости выражены для 95 % уровня вероятности и не могут быть применимы к диапазонам концентрации и матрицам, отличающихся от заданных.

10.2 Повторяемость (сходимость)

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами испытаний, полученными с помощью такого же метода по идентичному испытуемому материалу в одной и той же лаборатории одним и тем же лаборантом с помощью одного и того же оборудования в пределах короткого периода времени может не более, чем в 5 % случаях, превышать:

- для холестерина: r = 14,5 мг/100 г жира; s_r = 5,20 мг/100 г жира;
- для кампестерина: r = 1,9 мг/100 г жира; s_r = 0,68 мг/100 г жира;
- для стигмастерина: r = 1,4 мг/100 г жира; s_r = 0,50 мг/100 г жира;
- для β-ситостерина: r = 3,8 мг/100 г жира; s_r = 1,37 мг/100 г жира;

10.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя отдельными результатами испытаний, полученная с помощью одного и того же метода на идентичном испытуемом материале в разных лабораториях разными лаборантами с помощью разного оборудования, может не более, чем в 5 % случаях, превышать:

- для холестерина: R = 32,6 мг/100 г жира; s_R = 11,66 мг/100 г жира;
- для кампестерина: R = 6,5 мг/100 г жира; s_R = 2,34 мг/100 г жира;
- для стигмастерина: R = 3,9 мг/100 г жира; s_R = 1,39 мг/100 г жира;
- для β-ситостерина: R = 9,5 мг/100 г жира; s_R = 3,39 мг/100 г жира.

11 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

b) использованный метод отбора проб;

c) использованный метод, со ссылкой на настоящий стандарт;

d) все рабочие детали, не указанные в настоящем стандарте или считающиеся вспомогательными, вместе с деталями каких-либо инцидентов, которые могут повлиять на результат (ы) испытаний;

e) полученный (е) результат (ы) испытаний или, если проверена сходимость, конечный полученный приведенный результат.

Приложение А
(справочное)

Пример газожидкостной хроматограммы

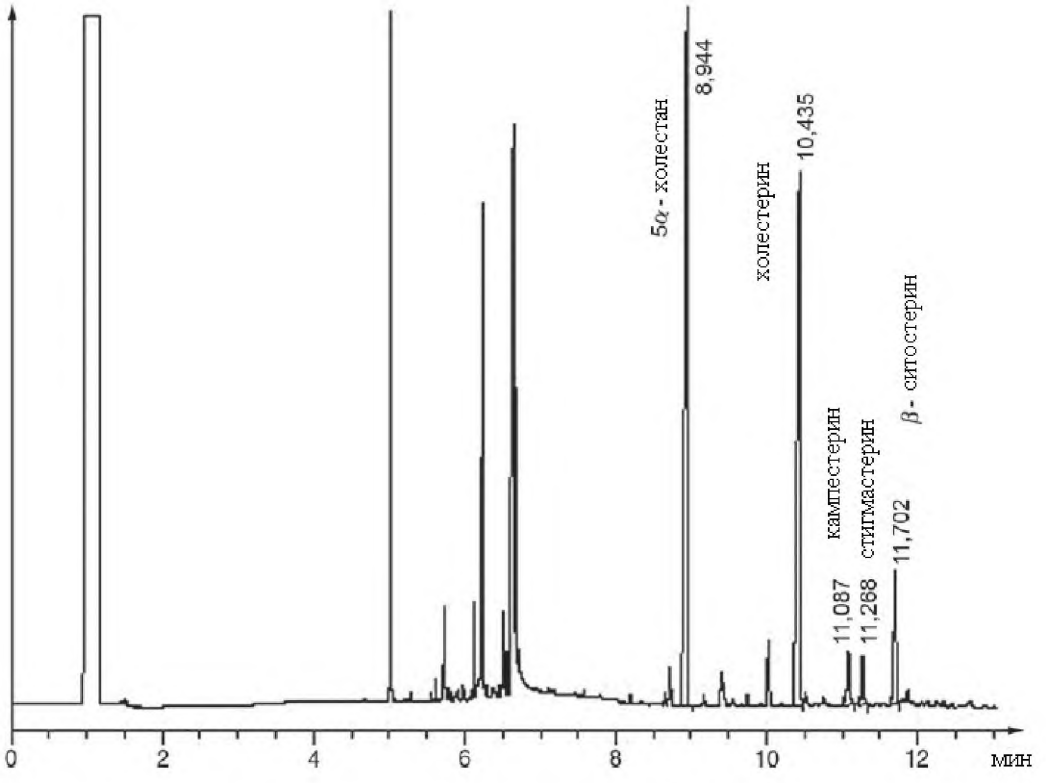

Рисунок А.1 — Пример газожидкостной хроматограммы стеринов, полученной в условиях, представленных в 6.18.2

Приложение В
(справочное)

Результаты межлабораторного опыта

Межлабораторное совместное испытание, включающее в себя 13 лабораторий, проводилось в соответствии с [2] и [3] на трех разных пробах обезвоженного молочного жира, содержащего 28 %–32 % растительного жира. Три жировые смеси были разделены на шесть контрольных параллельных проб.

Испытание было организовано и оценивалось Instituto del Frio (CSIC) (ES) и Instituto Sperimentale Lattiero Caseario (IT). Результаты в виде массовой доли холестерина, кампестерина, стигмастерина и β-ситостерина были выражены в миллиграммах на 100 граммов жира.

Полученные результаты были подвергнуты статистическому анализу в соответствии с [3] для получения данных по точности, представленных в таблице В.1.

Таблица В.1 — Результаты межлабораторного испытания

Холестерин			
	Проба 1	Проба 2	Проба 3
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	10	10
Среднее значение, мг/100 г жира	187,0	179,9	181,5
Среднеквадратическое отклонение сходимости, s_r, мг/100 г жира	1,69	5,87	8,02
Коэффициент вариации сходимости, %	0,9	3,3	4,4
Предел сходимости, r (= 2,8 s_r), мг/100 г жира	4,7	16,4	22,5
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, s_R, мг/100 г жира	13,67	10,69	10,62
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	7,3	5,9	5,8
Предел воспроизводимости	38,3	29,9	29,7

Кампестерин			
	Проба 1	Проба 2	Проба 3
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	11	10	12
Среднее значение, мг/100 г жира	13,1	14,7	15,5
Среднеквадратическое отклонение сходимости, s_r, мг/100 г жира	0,57	0,79	0,69
Коэффициент вариации сходимости, %	4,4	5,3	4,5
Предел сходимости, r (= 2,8 s_r), мг/100 жира	1,6	2,2	1,9
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, s_R, мг/100 г жира	1,95	2,29	2,76
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	14,9	15,6	17,8
Предел воспроизводимости	5,5	6,4	7,7

Стигмастерин			
	Проба 1	Проба 2	Проба 3
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	10	8	11
Среднее значение, мг/100 г жира	10,1	10,7	12,8
Среднеквадратическое отклонение сходимости, s_r, мг/100 г жира	0,49	0,52	0,48
Коэффициент вариации сходимости, %	4,9	4,8	3,7
Предел сходимости, r (= 2,8 s_r), мг/100 г жира	1,4	1,4	1,3
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, s_R, мг/100 г жира	1,41	1,37	1,39
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	14,0	12,7	10,9
Предел воспроизводимости	3,9	3,8	3,9

Окончание таблицы В.1

β-ситостерин			
	Проба 1	Проба 2	Проба 3
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	12	10	8
Среднее значение, мг/100 г жира	32,9	35,2	40,8
Среднеквадратическое отклонение сходимости, s_r, мг/100 г жира	1,70	1,19	1,21
Коэффициент вариации сходимости, %	5,2	3,4	3,0
Предел сходимости, r (= 2,8 s_r), мг/100 г жира	4,8	3,3	3,4
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, s_R, мг/100 г жира	4,71	4,00	1,45
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	14,3	11,4	3,6
Предел воспроизводимости	13,2	11,2	4,1

Библиография

[1] ISO 707:2008|IDF 050:2008 Milk and milk products — Guidance on sampling
(Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб)

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

[3] 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. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения)

[4] ISO 6799:1991 Animal and vegetable fats and oils; determination of composition of the sterol fraction — Method using gas chromatography
(Жиры и масла животные и растительные. Определение состава стериновой фракции. Метод газожидкостной хроматографии)

[5] ISO 12078:2006|IDF 159:2006 Anhydrous milk fat — Determination of sterol composition by gas liquid chromatography (Reference method)
(Жир молочный обезвоженный. Определение состава стеринов газожидкостной хроматографией (Контрольный метод))

Приложение Д.А
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам приведены в таблице Д.А.1.

Таблица Д.А.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 3696:1987 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний	IDT	ГОСТ ISO 3696-2013 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля
ISO 14156:2001|IDF 172:2001 Молоко и молочные продукты. Методы экстракции липидов и жирорастворимых соединений	IDT	ГОСТ ISO 14156-2015 Молоко и молочная продукция. Методы экстракции липидов и жирорастворимых соединений

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичные стандарты.

УДК 636.085(083.74)(476) МКС 67.100.01 IDT

Ключевые слова: жир молочный, стериновый состав, реактивы, оборудование, отбор проб, методика, точность, сходимость, воспроизводимость, протокол испытаний

Ответственный за выпуск *Н. А. Баранов*

Сдано в набор 11.10.2016. Подписано в печать 25.10.2016. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 2,21 Уч.-изд. л. 0,78 Тираж 2 экз. Заказ 1929

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