МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33819— 2016

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение состава летучих жирных кислот методом газовой хроматографии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в 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 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова» (ФГБНУ «ВНИИМП им. В.М. Горбатова»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 июля 2016 г. № 89-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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 октября 2016 г. № 1490-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33819—2016 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2018 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2016

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

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение состава летучих жирных кислот методом газовой хроматографии

Meat and meat products. Determination of volatile fatty acids by gas chromatography

Дата введения — 2018—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо, включая мясо птицы, субпродукты, мясные и мясосодержащие продукты, и устанавливает метод определения состава летучих жирных кислот с помощью газовой хроматографии.

Диапазон измерений содержания летучих жирных кислот составляет от 1 до 1000 мг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

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

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

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

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

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

ГОСТ 3022—80 Водород технический. Технические условия

ГОСТ ISO 3696—2013** Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля

ГОСТ 4025—95 Мясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-2—2003*** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

---

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений».

Издание официальное

ГОСТ ИСО 5725-6—2003* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995—77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 7269—2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 7702.2.0—95 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 9792—73 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 17433—80 Промышленная чистота. Сжатый воздух. Классы загрязненности

ГОСТ 20015—88 Хлороформ. Технические условия

ГОСТ 20469—95 Электромясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 23392—78 Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести

ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26272—98 Часы электронно-механические кварцевые наручные и карманные. Общие технические условия

ГОСТ 26678—85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

ГОСТ 28165—89 Приборы и аппараты лабораторные из стекла. Аквадистилляторы. Испарители. Установки ректификационные. Общие технические требования

ГОСТ 29224—91 Посуда лабораторная стеклянная. Термометры жидкостные стеклянные лабораторные. Принципы устройства, конструирования и применения

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **летучие жирные кислоты; ЛЖК:** Низкомолекулярные карбоновые кислоты, входящие в состав липидов жировой ткани мяса и влияющие на формирование аромата в процессе термической обработки сырья и хранения продукта, способные при кипячении улетучиваться с водяным паром.

3.2 **аналит:** Вещество, определяемое при анализе.

3.3 **аналитическая система:** Установка для определения ЛЖК.

4 Требования безопасности

4.1 При подготовке и проведении испытаний необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

4.2 Помещение, в котором проводятся испытания, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Работу необходимо проводить, соблюдая правила личной гигиены и противопожар-

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

ной безопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.004, и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

4.3 При работе с электроприборами необходимо соблюдать требования безопасности по ГОСТ 12.1.019.

5 Сущность метода

Метод основан на выделении летучих жирных кислот из продукта паровой дистилляцией (перегонкой с водяным паром) с последующим их переводом в метиловые эфиры и разделением компонентов с помощью газовой хроматографии.

Количественное определение осуществляют по площади пика идентифицированных соединений методом абсолютной градуировки, полученной при анализе градуировочных растворов известных соединений в аналогичных условиях.

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Газовый хроматограф*, укомплектованный:

- пламенно-ионизационным детектором с пределом детектирования $5 \cdot 10^{-12}$ гС/с в пересчете на содержание углерода, обеспечивающим нагрев до температуры выше температуры колонки;
- масс-спектрометрическим детектором** с ионизацией электронным ударом, позволяющий проводить измерения в диапазоне от 33 до 550 атомных единиц массы (а. е. м.), с разрешением по шкале масс не более 1,0 а. е. м. и чувствительностью в режиме ионизации электронным ударом: при инжекции в колонку 2 пг гексахлорбензола (сканирование в диапазоне от 45 до 359 а. е. м. за 1 с) отношение сигнал/шум на молекулярном ионе с m/z 284 не менее 10/1;
- устройством для введения образца с делением потоков (автосамплер);
- капиллярной колонкой длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщиной пленки 0,25 мкм;
- записывающим устройством с компьютерным управлением и автоматической программой обработки хроматографических данных в соответствии с комплектацией хроматографа.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 или нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт, специального или высокого класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,0001 г.

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры от 20 °С до 100 °С, с точностью ± 0,5 °С.

Испаритель ротационный по ГОСТ 28165.

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025 или электромясорубка бытовая по ГОСТ 20469 и с диаметром отверстий решетки 2—4 мм.

pH-метр с диапазоном измерений от 0 до 14 ед. pH с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,1 ед. pH.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Часы электронно-механические по ГОСТ 26272.

Термометр по ГОСТ 29224, с диапазоном измерения температуры от 0 °С до 100 °С и ценой деления 1 °С.

Банки стеклянные вместимостью 250—500 $см^3$ с крышкой.

Воронки делительные ВД-1-250(500) ХС по ГОСТ 25336.

Холодильник ХСВО 10 ХС по ГОСТ 25336.

Колбы конические Кн 1-100-24/29 ТХС, Кн 2-250-34 ТХС, Кн-2-250-50 ТХС по ГОСТ 25336.

---

* В настоящем стандарте используется хроматограф HP 7890 с пламенно-ионизационным детектором, устройством для введения образца, колонкой HP-Innowax производства «Agilent Technologies», США. Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других средств измерений с аналогичными свойствами.

** В настоящем стандарте используется детектор 5975 VL Triple-Axis MSD производства «Agilent Technologies», США, который применяется в качестве второго детектора или присоединяется к независимому хроматографу. Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других средств измерений с аналогичными свойствами.

Пипетки градуированные 1-1-1-1 или 1-2-1-1; 1-1-1-2 или 1-2-1-2; 1-1-1-5 или 1-2-1-5; 1-1-1-10 или 1-2-1-10 по ГОСТ 29227 или дозаторы автоматические с переменным объемом дозирования 100—1000 мм^3 и относительной погрешностью дозирования не более ± 1 %.

Флаконы — виалы для жидких проб вместимостью 2,5 см^3 в комплекте автосамплера газового хроматографа.

Фильтр мембранный из политетрафторэтилена с диаметром пор 0,45 мкм.

Колбы мерные 2-10-2, 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

Флаконы — виалы хроматографические из темного стекла вместимостью 2,0 см^3.

Вода дистиллированная, степень чистоты II, по ГОСТ 6709 или вода для лабораторного анализа по ГОСТ ISO 3696.

Азот газообразный по ГОСТ 9293.

Ацетилхлорид, х. ч.

Ацетонитрил для хроматографии, х. ч.

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

Воздух класса 0 по ГОСТ 17433, из безмасляного воздушного компрессора.

н-Гексан, х. ч.

Гелий газообразный (сжатый) высокой чистоты.

Калия гидроокись по ГОСТ 24363, х. ч.

Метанол по ГОСТ 6995.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.

Хлороформ по ГОСТ 20015, х. ч.

Этилацетат для хроматографии, х. ч.

Стандартный раствор* смеси метиловых эфиров С6—С24 жирных кислот в метиленхлориде массовой концентрации 10 мг/см^3: капроновой (С6:0), каприловой (С8:0), каприновой (С10:0), деценовой (С10:1), ундециловой (С11:0), лауриновой (С12:0), тридекановой (С13:0), миристиновой (С14:0), миристолеиновой (С14:1), пентадекановой (С15:0), *цис*-10-пентадеценовой (С15:1), пальмитиновой (С16:0), пальмитолеиновой (С16:1), маргариновой (С17:0), гептадеценовой (С17:1), стеариновой (С18:0), олеиновой (С18:1n9c), элаидиновой (С18:1n9t), линолевой (С18:2n6), гамма-линоленовой (С18:3n6), альфа-линоленовой (С18:3n3), нондекановой (С19:0), арахиновой (С20:0), гадолеиновой (С20:1n9), *цис*-11,14-эйкозадиеновой (С20:2n6), *цис*-8,11,14-эйкозатриеновой (С20:3n6), *цис*-11,14,17-эйкозатриеновой (С20:3n3), арахидоновой (С20:4n6), эйкозапентаеновой (С20:5n3), генэйкозановой (С21:0), бегеновой (С22:0), эруковой (С22:1n9), *цис*-13,16-докозадиеновой (С22:2n6), клупанодоновой (С22:5n3), докозагексаеновой (С22:6n3), трикозановой (С23:0), лигноцериновой (С24:0), нервоновой (С24:1) или стандартные образцы указанных индивидуальных метиловых эфиров жирных кислот, х. ч.

Примечание — Перечень и систематическое международное наименование жирных кислот животного происхождения приведены в приложении А.

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

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб проводят по ГОСТ 7269, ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 9792.

7.2 Пробу измельчают, дважды пропуская через мясорубку с диаметром отверстий решетки 2—4 мм, и тщательно перемешивают.

7.3 Часть подготовленной пробы (контрольную пробу) помещают в стеклянную банку вместимостью 250—500 см^3, закрывают крышкой и хранят при температуре (4 ± 2) °С до окончания анализа.

Допускается хранить подготовленную пробу и контрольную пробу в замороженном состоянии при температуре не выше минус 18 °С не более 7 сут.

---

* В настоящем стандарте используется градуировочный раствор смеси метиловых эфиров С6—С24 жирных кислот № 47885U производства Supelco (США). Данная информация является рекомендуемой.

8 Подготовка к анализу

8.1 Приготовление растворов

8.1.1 Приготовление 15 %-ного раствора ацетилхлорида в метаноле

В колбу вместимостью 250 см^3 вносят 50 см^3 метанола и осторожно по каплям прибавляют 7,5 см^3 ацетилхлорида. Во избежание резкого вскипания смеси колбу охлаждают под струей холодной проточной воды или помещая ее в снег или лед.

Раствор хранят в герметично укупоренном сосуде при комнатной температуре не более 2 мес.

8.1.2 Приготовление насыщенного раствора гидроксида калия в метаноле

В колбу вместимостью 250 см^3 вносят 16,0 г гидроксида калия и растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды (около 10 см^3). Во избежание резкого вскипания смеси колбу охлаждают под струей холодной проточной воды, а затем добавляют 100 см^3 метанола.

Раствор хранят в герметично укупоренном сосуде при комнатной температуре не более 2 мес.

8.1.3 Приготовление насыщенного раствора хлорида натрия

35,0 г хлорида натрия вносят в колбу вместимостью 100 см^3 и растворяют в 65 см^3 дистиллированной воды.

Раствор хранят в герметично укупоренном сосуде при комнатной температуре не более 2 мес.

8.1.4 Приготовление градуировочных растворов

0,1 см^3 стандартного раствора смеси метиловых эфиров или 0,001 г стандартных образцов метиловых эфиров С6—С24 жирных кислот растворяют в 1 см^3 метанола или гексана в мерной колбе вместимостью 10 см^3 с притертой пробкой и доводят объем раствора гексаном до метки. Полученный раствор имеет концентрацию 0,1 мг/см^3 или 100 мкг/см^3.

Для градуировки допускается разбавлять 1 см^3 полученного раствора в 10 раз, смешивая его с 9 см^3 гексана, или использовать готовые растворы метиловых эфиров жирных кислот. Полученный раствор имеет концентрацию 0,01 мг/см^3.

Раствор используют свежеприготовленным.

Допускается хранение смеси метиловых эфиров или индивидуальных С6—С24 жирных кислот в метаноле при температуре минус 20 °С в запаянной стеклянной ампуле в течение 2 мес.

Примечание — При использовании смеси метиловых эфиров С6—С24 жирных кислот допускается для последующей хроматографической идентификации использовать стандартные растворы разной концентрации. Величина оптимальной концентрации для сигнала регистрации на экране устанавливается экспериментально для конкретного типа хроматографа. Хорошая идентификация пиков на пламенно-ионизационном детекторе наблюдается при получении выходного сигнала более 10 мВ с общей интенсивностью сигнала в 1000 мВ.

8.2 Градуировка газового хроматографа с пламенно-ионизационным детектором и установление времени удерживания и построение градуировочной зависимости

8.2.1 В хроматограф в автоматическом режиме в соответствии с заданной программой вводят 1 мм^3 стандартного раствора метиловых эфиров жирных кислот с концентрацией 0,1 мг/см^3 в гексане или метаноле.

8.2.2 При калибровке в таблицу автоматического обсчета результатов анализа вносят установленные времена выхода пиков для каждого вещества с отклонением ± 0,2 мин. Калибровку проверяют и сверяют с ранее полученными калибровками ежедневно, а также после выполнения подряд более десяти анализов.

Для уточнения времени выхода пика для каждой жирной кислоты используют метод внутреннего стандарта. Для этого в раствор пробы вносят известную массовую концентрацию метилового эфира конкретной жирной кислоты, превышающую в три—пять раз уровень ее содержания в пробе, и проводят хроматографирование по 9.4, устанавливая время выхода нового более интенсивного пика, соответствующего времени выхода введенного эфира жирной кислоты.

8.3 Градуировка газового хроматографа с масс-спектрометрическим детектором и построение градуировочной зависимости

8.3.1 Градуировку и настройку масс-спектрометрического детектора в режиме электронной ионизации проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

8.3.2 ГХ-МС анализ приготовленного по 8.1.4 градуировочного раствора смеси метиловых эфиров жирных кислот массовой концентрацией 0,1 мг/см^3 проводят в условиях, выбранных в соответствии

с 9.3. Проводят по три параллельных измерения для каждой концентрации градуировочных растворов. Полученные хроматограммы обрабатывают с использованием компьютерной системы обработки данных. Определяют абсолютное время удерживания целевых веществ. С использованием средств программного обеспечения строят градуировочную зависимость площади пика определяемых веществ от концентрации аналита в пробе.

Коэффициент линейной корреляции полученной градуировочной зависимости должен быть не менее 0,99. При невыполнении этого условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их. В случае необходимости готовят новые градуировочные растворы.

Проведение градуировки обязательно при замене хроматографической колонки, а также при систематическом получении неудовлетворительных результатов контроля, выполняемого по разделу 12.

8.4 Контроль хроматографической (аналитической) системы

Контроль выполняют с использованием приготовленного по 8.1.4 градуировочного раствора. Полученный результат анализа не должен отличаться от действительного значения концентрации определяемых веществ в градуировочном растворе более чем на 3 %, относительное стандартное отклонение времени удерживания аналитов — не более чем на 5 %. В случае невыполнения указанного критерия стабильности градуировочной характеристики проводят новую градуировку.

Контроль аналитической системы осуществляют при условиях, указанных в 9.3.1, перед началом проведения измерений, а также при смене хроматографической колонки, чистке блоков аналитического прибора и т. д.

9 Проведение анализа

9.1 Выделение летучих жирных кислот из продукта

9.1.1 Пробу массой 25,0 г используют для выделения летучих жирных кислот, которое проводят по ГОСТ 23392.

9.1.2 К полученному дистилляту добавляют 100 $см^3$ хлороформа в соотношении 1:1. Смесь перемешивают в течение 5 мин для переэкстракции аналита в фазу органического растворителя, отделяют нижнюю половину хлороформного слоя на делительной воронке и упаривают экстракт досуха на ротационном испарителе.

9.2 Метилирование жирных кислот

9.2.1 К полученному после упаривания остатку прибавляют 3 $см^3$ 15 %-ного раствора ацетилхлорида в метаноле и выдерживают смесь на водяной бане при температуре 100 °С в течение 2 ч. В качестве реактора для метилирования используют пробирку с пришлифованным обратным холодильником.

9.2.2 После завершения обработки по переводу образующихся жирных кислот в форму метилового эфира (см. 9.2.1) к охлажденной до комнатной температуры смеси пипеткой прибавляют 1,25 $см^3$ насыщенного раствора гидроксида калия в метаноле до значения 5,0—6,0 ед. pH, а затем 3 $см^3$ насыщенного водного раствора хлорида натрия и 3 $см^3$ гексана. Смесь встряхивают и дают ей отстояться в течение 30 мин до получения прозрачного верхнего слоя жидкости, или фильтруют через мембранный фильтр из политетрафторэтилена.

1 $см^3$ прозрачного верхнего гексанового раствора метиловых эфиров жирных кислот помещают в виалы и проводят хроматографический анализ в соответствии с 9.3.

9.3 Условия хроматографирования

9.3.1 Условия проведения хроматографического анализа подбирают в зависимости от вида применяемого хроматографа и хроматографической колонки.

В соответствии с инструкцией по эксплуатации проводят включение газового хроматографа, устанавливая давление газа на входном манометре хроматографа 5 МПа. В соответствии с характеристиками хроматографа задают программируемый метод анализа.

9.3.2 Для хроматографа с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой применяют следующие хроматографические условия:

- повышение температуры колонки в термостате от 100 °С до 260 °С со скоростью 10 °С /мин;
- температура инжектора — 250 °С;

- температура детектора — 300 °С;
- скорость потока водорода из генератора или из баллона — 35 $см^3$/мин;
- скорость потока азота — 20 $см^3$/мин;
- скорость потока газа-носителя через колонку — 0,5 $см^3$/мин;
- деление потока — 1:100;
- время анализа — 30 мин;
- ввод 1 $мм^3$ пробы.

Для промывки шприца в автосамплере и очистки капиллярной колонки применяют последовательное введение этилацетата, ацетонитрила и гексана.

Анализ проб с низким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (менее 0,01 % от суммы) проводят на хроматографе с масс-спектрометрическим детектором.

9.3.3 Газовый хроматограф* с масс-спектрометрическим детектором включают в соответствии с инструкцией по эксплуатации и устанавливают параметры, рекомендуемые изготовителем капиллярных колонок. Например, для капиллярной колонки 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм применяют следующие хроматографические условия:

- газ-носитель — гелий;
- скорость потока газа-носителя — 1 $см^3$/мин;
- температура инжектора — 250 °С;
- инжектор в режиме без деления потока;
- начальная температура термостата колонки — 100 °С в течение 2 мин;
- программируемый нагрев от 100 °С до 290 °С со скоростью 20 °С/мин;
- изотерма при температуре 290 °С до 25 мин;
- время анализа — 25 мин;
- объем вводимой пробы от 1 до 5 $мм^3$.

Допускается использование других хроматографических условий, обеспечивающих разделение компонентов пробы.

Для идентификации применяют следующие параметры:

- температура источников ионов — 230 °С;
- температура квадруполя — 150 °С;
- энергия электронов — 70 эВ;
- режим детектирования — сканирование полного масс-спектра (в диапазоне масс 33—550 а. е. м.).

9.4 Проведение измерений

В виалы вместимостью 2,0 $см^3$ вносят 1 $см^3$ пробы, приготовленной по 9.2, и проводят анализ с пламенно-ионизационным детектором или ГХ-МС анализ при условиях, указанных в 9.3.

Хроматограмма стандартных веществ, определяемых с пламенно-ионизационным детектором, указаны на рисунке Б.1 (приложение Б). Характеристики сигналов масс-спектров метиловых эфиров жирных кислот приведены в таблице А.2 (приложение А).

Идентификацию индивидуальных веществ осуществляют по абсолютному времени удерживания и относительной интенсивности основного и двух подтверждающих ионов. При этом в масс-спектре должны присутствовать все пики, имеющие в эталонном масс-спектре относительную интенсивность не менее 10 %, максимальное расхождение в значениях от этой величины не должно составлять более 20 %.

Относительная интенсивность двух вспомогательных ионов в масс-спектрах определяемых веществ не должна отличаться более чем на 20 % от интенсивности этих же пиков в спектрах градуировочных растворов. Соотношение сигнал/шум для каждого из выбранных ионов не должно быть меньше 3:1.

По значению площади хроматографического пика с использованием установленной градуировочной характеристики и программы обработки данных находят массовую долю жирной кислоты в анализируемом растворе. На рисунке Б.2 показано масс-спектрометрическое детектирование основных компонентов летучих жирных кислот.

---

* В настоящем стандарте используется газовый хроматограф Agilent7890 с масс-спектрометрическим детектором Agilent 5975C и хроматографической колонкой Agilent HP-5MS, 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм. Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других средств измерений с аналогичными свойствами.

10 Обработка результатов

10.1 В соответствие с данными, полученными при анализе градуировочных растворов, создают таблицу пиков с использованием программного обеспечения хроматографа. Расчеты площади пиков и массовой доли индивидуальной летучей жирной кислоты выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

10.2 Массовую долю индивидуальной летучей жирной кислоты X, мг/кг, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C_{ст} \cdot S_x \cdot V_р}{S_{ст} \cdot m}, \quad (1)$$

где $C_{ст}$ — массовая доля индивидуального стандартного вещества в градуировочном растворе, мкг/см^3 (см. 8.1.4);

S_x — площадь пика индивидуальной летучей жирной кислоты в анализируемой пробе, усл. ед.;

$V_р$ — объем раствора для растворения аналита, см^3;

$S_{ст}$ — площадь пика индивидуальной летучей жирной кислоты в градуировочном растворе, усл. ед.;

m — масса анализируемой пробы, г.

В случае, когда при градуировке с использованием программного обеспечения, повторяющиеся величины учтены, массовую долю индивидуальной летучей жирной кислоты X, мг/кг, можно вычислять автоматически по упрощенной формуле

$$X = \frac{K \cdot S_x}{S_{ст}}, \quad (2)$$

где K — автоматический градуировочный коэффициент.

10.3 За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, если удовлетворяются условия повторяемости (сходимости).

Вычисление массовой доли жирной кислоты (аналита) в анализируемой пробе экстракта проводят для каждого из двух параллельных определений.

Примечание — Результат выражают в мг/кг, что равнозначно получаемой по формуле (1) размерности мкг/г.

11 Метрологические характеристики

11.1 Метрологические характеристики метода для жирных кислот, перечисленных в приложении А, при доверительной вероятности $P = 0,95$ приведены в таблице 1.

Таблица 1

Наименование определяемого показателя	Диапазон измерений массовой концентрации индивидуальной жирной кислоты, мг/кг	Показатели точности		
		Границы относительной системной погрешности $\pm \delta_c$, %	Предел повторяемости (сходимости) r, мг/кг	Предел воспроизводимости R, мг/кг
Массовая доля индивидуальной летучей жирной кислоты	До 5 включ.	25	$0,18x_{ср}$	$0,20X_{ср}$
	Св. 5 до 1000 включ.	18	$0,15x_{ср}$	$0,18X_{ср}$
$x_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, мг/кг; $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух измерений, выполненных в разных лабораториях, мг/кг.				

Примечание — Нижний предел обнаружения летучих жирных кислот животного происхождения методом газовой хроматографии определяется индивидуальной чувствительностью применяемого детектора. Для пламенно-ионизационного детектора он соответствует концентрации 0,1—1 мг/см^3, для масс-спектрометрического 0,01—0,1 мг/см^3 в анализируемом растворе.

11.2 Границы относительной погрешности результатов измерений ($\pm\delta$), находящиеся с доверительной вероятностью $P = 0,95$, при соблюдении условий настоящего стандарта, не должны превышать значений, приведенных в таблице 1.

12 Проверка приемлемости результатов измерений

12.1 Контроль стабильности результатов измерений (повторяемости, промежуточной прецизионности и погрешности) проводят в соответствии с порядком, установленным в лаборатории, по ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 6.2).

12.2 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости), осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-2. Расхождение между результатами измерений не должно превышать предела повторяемости (r). Значения r приведены в таблице 1.

12.3 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-2. Расхождение между результатами измерений, полученными двумя лабораториями, не должно превышать предела воспроизводимости (R). Значения R приведены в таблице 1.

12.4 Расхождение между результатами двух параллельных измерений, выполненных одним оператором при испытании одной и той же пробы с использованием одних и тех же средств измерений и реактивов, не должно превышать предела повторяемости (сходимости) r, значения которого приведены в таблице 1.

$$|x_1 - x_2| \le r, \tag{3}$$

где x_1 и x_2 — результаты двух параллельных измерений, мг/кг;

r — предел повторяемости, мг/кг.

12.5 Расхождение между результатами двух измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R, значения которого приведены в таблице 1.

$$|X_1 - X_2| \le R, \tag{4}$$

где X_1 и X_2 — результаты двух измерений, выполненных в разных лабораториях, мг/кг;

R — предел воспроизводимости, мг/кг.

12.6 Оформление результатов измерений проводят с учетом того, что числовое значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение абсолютной погрешности, содержащее не более двух значащих цифр.

Приложение А
(справочное)

Перечень жирных кислот

А.1 Перечень жирных кислот животных жиров приведен в таблице А.1.

Таблица А.1

Тривиальное наименование	Систематическое наименование	Международное наименование	Обозначение
Капроновая	Гексановая	Hexanoic (caproic)	С 6:0
Каприловая	Октановая	Octanoic (caprylic)	С 8:0
Каприновая	Декановая	Nonanoic (capric)	С10:0
Деценовая	*Цис*-9-деценовая	*Cis*-9-decenoic	С10:1
Ундециловая	Ундекановая	Undecanoic	С11:0
Лауриновая	Додекановая	Dodecanoic (lauric)	С12:0
Тридекановая	Тридекановая	Tridecanoic	С13:0
Миристиновая	Тетрадекановая	Tetradecanoic (myristic)	С14:0
Миристолеиновая	*Цис*-9-тетрадеценовая	*Cis*-9-tetradecenoic (myristoleic)	С 14:1
Пентадекановая	Пентадекановая	Pentadecanoic	С15:0
Пентадеценовая	*Цис* -10-пентадеценовая	*Cis*-10-pentadecenoic	С15:1
Пальмитиновая	Гексадекановая	Hexadecanoic (palmitic)	С16:0
Пальмитолеиновая	*Цис*-9-гексадеценовая	*Cis*-9-hexadecenoic (palmitoleic)	С16:1
Маргариновая	гептадекановая	Heptadecanoic	С17:0
Гептадеценовая	*Цис-10-гептадеценовая*	*Cis*-10-heptadecenoic	С17:1
Стеариновая	Октадекановая	Octadecanoic (stearic)	С18:0
Олеиновая	*Цис*-9-октадеценовая	*Cis*-9-octadecenoic (oleic)	С18:1 n9c
Элаидиновая	*Транс*-9-октадеценовая	*Trans*-9-octadecenoic (elaidic)	С18:1 n9t
Линолевая	*Цис*-9,12-октадекадиеновая	*Cis*-9,12-octadecadienoic (linoleic)	С18:2 n6
γ-Линоленовая	*Цис*-6,9,12- октадекатриеновая	*Cis*-6,9,12-octadecatrienoic (gamma-linolenic)	С18:3 n6
α-Линоленовая	*Цис*-9,12,15-октадекатриеновая	*Cis*-9,12,15-octadecatrienoic (alpha-linolenic)	С18:3 n3
Нондекановая	Нондекановая	Nonadecanoic	С19:0
Гадолеиновая	*Цис*-9-эйкозеновая	*Cis*-9-eicosenoic	С20:1 n9
Арахиновая	Эйкозановая	Eicosanoic (arachidic)	С20:0
Эйкозадиеновая	*Цис*-11,14-эйкозадиеновая	*Cis*-11,14-eicosadienoic	С20:2
Эйкозатриеновая	*Цис*-8,11,14-эйкозатриеновая	*Cis*-8,11,14-eicosatrienoic	С20:3 n6
Эйкозатриеновая	*Цис*-11,14,17-эйкозатриеновая	*Cis*-11,14,17-eicosatrienoic	С20:3 n3

Окончание таблицы А.1

Тривиальное наименование	Систематическое наименование	Международное наименование	Обозначение
Арахидоновая	*Цис*-5,8,11,14-эйкозатетраеновая	*Cis*-5,8,11,14-eicosatetraenoic (arachidonic)	C20:4 n6
Эйкозапентаеновая	*Цис*-5,8,11,14,17-эйкозапентаеновая	*Cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic	C20:5 n3
Генэйкозановая	генэйкозановая	Heneicosanoic	C21:0
Бегеновая	Докозановая	Docosanoic (behenic)	22:0
Эруковая	*Цис*-13-докозеновая	*Cis*-13-docosenoic (erucic)	C22:1 n9
Докозадиеновая	*Цис*-13,16-докозадиеновая	*Cis*-13,16-docosadienoic	C22:2
Докозапентаеновая	*Цис*-5,8,11,14,17-докозапентаеновая	*Cis*-5,8,11,14,17-docosapentaenoic	C22:5 n3
Докозагексаеновая	*Цис*-4,7,10,13,16,19-докозагексаеновая	*Cis*-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic	C22:6 n3
Трикозановая	Трикозановая	Tricosanoic	C23:0
Лигноцериновая	Тетракозановая	Tetracosanoic (lignoceric)	C24:0
Нервоновая	*Цис*-15-тетракозеновая	*Cis*-15-tetracosenoic (nervonic)	C24:1 n9

А.2 Максимальные сигналы масс-спектров метиловых эфиров жирных кислот приведены в таблице А.2.

Таблица А.2

Наименование кислоты	CAS №	*m/z* (интенсивность, усл. ед)
Гексановая	8106-70-7	74 (999), 87 (403), 43 (375)
Октановая	111-11-5	74 (999), 87 (420), 43 (220)
Декановая	1731-84-6	74 (999), 87 (575), 55 (239)
Ундекановая	1731-86-8	74 (999), 87 (403), 43 (375)
Додекановая	111-82-0	74 (999), 87 (557), 41 (245)
Тридекановая	1731-88-0	74 (999), 87 (678), 43 (223)
Тетрадекановая	124-10-7	74 (999), 87 (691), 55 (289)
Пентадекановая	7132-64-1	74 (999), 87 (695), 43 (262)
Гексадекановая	112-39-0	74 (999), 87 (720), 43 (325)
Цис-9-гексадеценовая	1120-25-8	55 (999), 69 (669), 74 (643)
Гептадекановая	1731-92-6	74 (999), 87 (640), 74 (643)
Октадекановая	112-61-8	74 (999), 87 (744), 43 (338)
Цис-9-октадеценовая	112-62-9	55 (999), 69 (656), 74 (535)
Транс-9-октадеценовая	1937-62-8	55 (999), 69 (954), 74 (901)
Цис-9,12-октадекадиеновая	2462-85-3	67 (999), 81 (775), 55 (742)
Цис-6,9,12-октадекатриеновая	2676-41-7	67 (999), 79 (850), 41 (820)
Цис-9,12,15-октадекатриеновая	301-00-8	79 (999), 67 (603), 95 (583)
Нондекановая	1731-94-8	74 (999), 87 (731), 43 (329)
Эйкозановая	1120-28-1	74 (999), 87 (775), 55 (742)

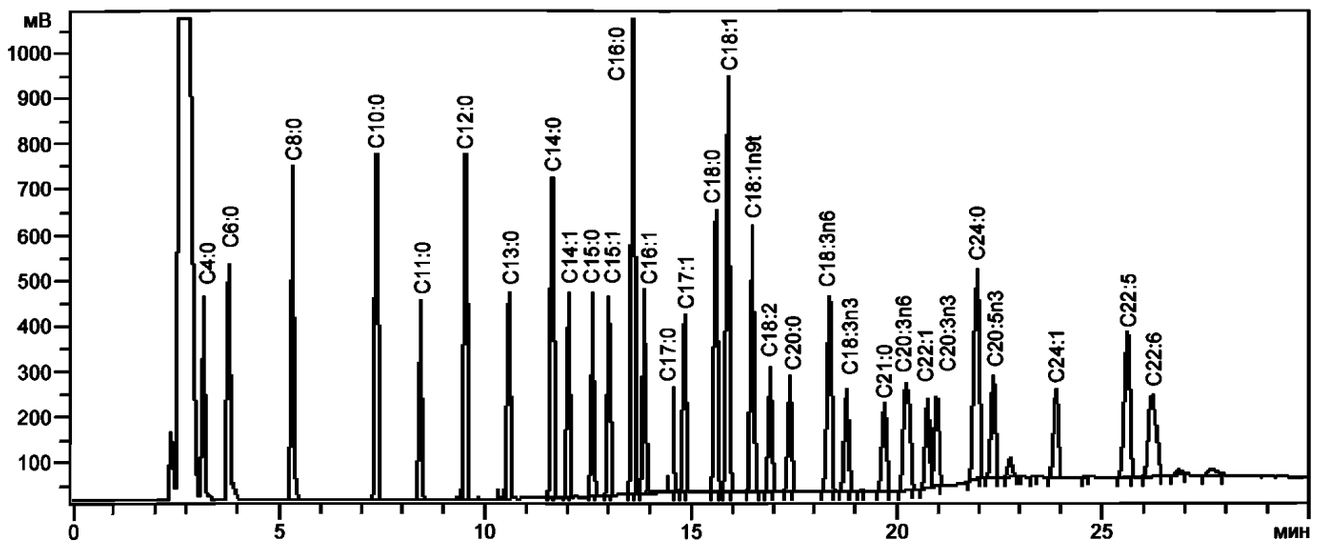
Окончание таблицы А.2

Наименование кислоты	CAS №	*m*/*z* (интенсивность, усл. ед)
Цис-11,14-эйкозадиеновая	2091-39-6	67 (999), 41 (820), 55 (720)
Цис-8,11,14-эйкозатриеновая	17364-32-8	74 (999), 55 (910), 41 (900)
Цис-11,14,17-эйкозатриеновая	55682-88-7	79 (999), 41 (740), 67 (630)
Цис-5,8,11,14-эйкозатетраеновая	506-32-11	165 (999), 179 (662), 115 (650)
Цис-5,8,11,14,17-эйкозапентаеновая	2734-47-6	79 (999), 91 (927), 67 (514)
Генэйкозановая	6064-90-0	74 (999), 87 (768), 43 (459)
Докозановая	929-77-1	74 (999), 87 (734), 55 (383)
Цис -13-докозеновая	112-86-7	55 (999), 69 (703), 41 (628)
Цис-4,7,10,13,16,19-докозагексаеновая	2566-90-7	79 (999), 91 (933), 67 (540)
Трикозановая	2433-97-8	74 (999), 87 (775), 43 (415)
Тетракозановая	2442-49-1	74 (999), 87 (618), 75 (346)
Цис-15-тетракозеновая	2733-88-2	55 (999), 348 (998), 69 (748)

Приложение Б
(справочное)

Хроматограммы жирных кислот

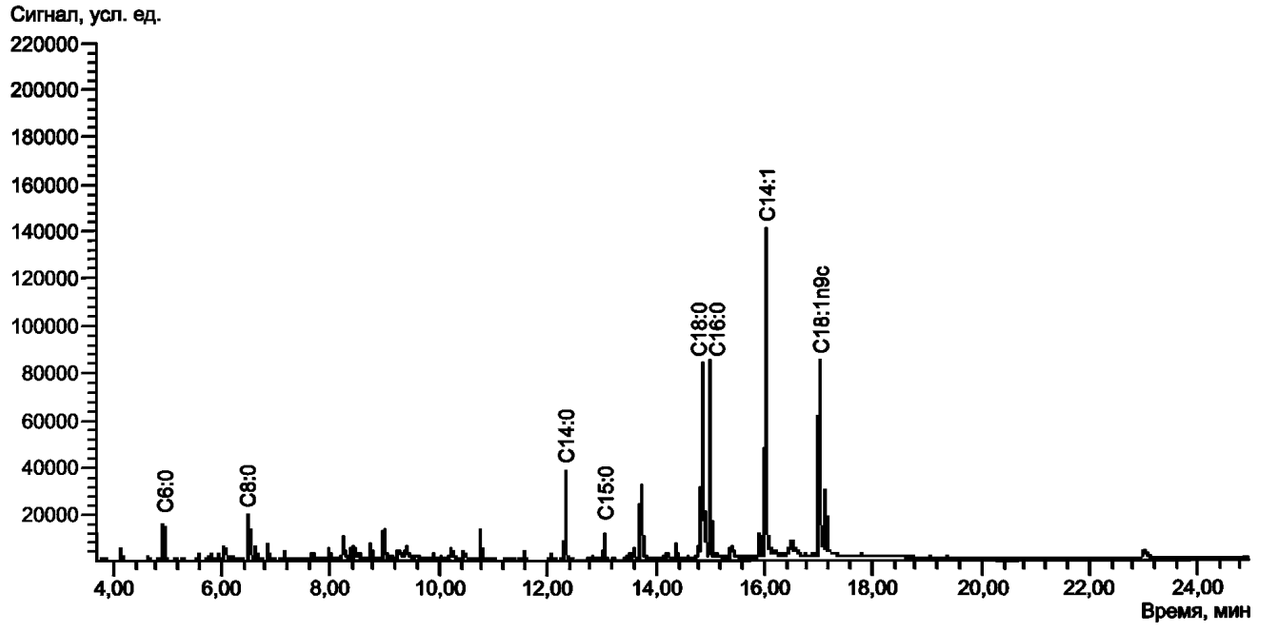
Б.1 Хроматограмма стандартов метиловых эфиров жирных кислот представлена на рисунке Б.1.



Пламенно-ионизационное детектирование, %: C4:0 — 4; C6:0 — 4; C8:0 — 4; C10:0 — 4; C11:0 — 2; C12:0 — 4; C13:0 — 2; C14:0 — 4; C15:0 — 2; C15:1 — 2; C16:0 — 6; C16:1 — 2; C17:0 — 2; C17:1 — 2; C18:0 — 4; C18:1 — 4; C20:0 — 2; C18:3*n*6 — 4; C18:3*n*3 — 2; C21:0 — 2; C20:3*n*6 — 2; C20:3*n*3 — 2; C22:1 — 2; C24:0 — 4; C20:5*n*3 — 2; C24:1 — 2; C22:5 — 2; C22:6 — 2

Рисунок Б.1

Б.2 Хроматограмма основных компонентов летучих жирных кислот свинины представлена на рисунке Б.2.



Масс-спектрометрическое детектирование: C6:0 — 4,91 мин; C8:0 — 6,86 мин; C14:0 — 12,86 мин; C15:0 — 13,06 мин; C18:0 — 15,02 мин; C16:0 — 15,1 мин; C14:1 — 16,05 мин; C18:1*n*9*c* — 17,2 мин

Рисунок Б.2

УДК 637.5.04.07:006.354 МКС 67.120.10

Ключевые слова: мясо, мясо птицы, субпродукты, мясные продукты, мясосодержащие продукты, летучие жирные кислоты, газовая хроматография, метод, определение, пламенно-ионизационный детектор, масс-спектрометрический детектор

Редактор *Д.А. Мезинова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.И. Варенцова*
Компьютерная верстка *Е.Е. Кругова*

Сдано в набор 28.10.2016. Подписано в печать 16.11.2016. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68. Тираж 41 экз. Зак. 2807.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru