МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32915— 2014

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Определение жирнокислотного состава жировой фазы методом газовой хроматографии

Издание официальное

**Москва
Стандартинформ
2015**

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 5 декабря 2014 г. № 46)

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
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 декабря 2014 г. № 1964-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32915—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 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

© Стандартинформ, 2015

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

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Определение жирнокислотного состава жировой фазы методом газовой хроматографии

Milk and milk products. Determination of fatty acid content by gas chromatography method

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко и молочную продукцию и устанавливает метод определения количественного состава смеси жирных кислот в виде метиловых эфиров (жирнокислотного состава) с применением газовой хроматографии.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

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

ГОСТ 3022—80 Водород технический. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-1—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

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

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9293—74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

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

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

Издание официальное

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

ГОСТ 25828—83 Гептан нормальный эталонный. Технические условия

ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

ГОСТ 26809.2—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты

ГОСТ 27752—88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 31665—2012 Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот

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 **газовая хроматография:** Метод разделения смеси веществ, основанный на распределении компонентов между двумя несмешивающимися фазами, где подвижная фаза находится в состоянии газа или пара — инертный газ (газ-носитель), неподвижной фазой является высокомолекулярная жидкость, закрепленная на пористый носитель или стенки длинной капиллярной трубки.

3.2 **метод внутренней нормализации:** Метод определения содержания компонента в смеси, при котором сумму каких-либо параметров, например сумму высот всех пиков или сумму их площадей, принимают за 100 %, тогда отношение высоты отдельного пика к сумме высот или отношение площади одного пика к сумме площадей при умножении на 100 будет характеризовать массовую долю (%) компонента в смеси.

4 Сущность метода

Метод газовой хроматографии основан на разделении смесей разнообразных веществ, испаряющихся без разложения. По мере движения по хроматографической колонке разделяемая смесь многократно распределяется между газом-носителем (подвижной фазой) и нелетучей неподвижной жидкой фазой, нанесенной на инертный материал (твердый носитель), которым заполнена колонка. Компоненты смеси селективно задерживаются последней. Таким образом, происходит их разделение, при этом выходящие из колонки вещества регистрируются детектором.

5 Отбор проб исследуемого продукта

Отбор проб — по ГОСТ 26809.1, ГОСТ 26809.2 или нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт.

6 Условия проведения измерений

При выполнении измерений в лаборатории следует соблюдать следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . (20 ± 5) °С;
- относительная влажность воздуха . . . . . (55 ± 25) %;
- атмосферное давление. . . . . (95 ± 10) кПа.

7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

Хроматограф газовый лабораторный, включающий следующие элементы:

Инжектор: для капиллярных колонок с делителем потока или вводом пробы непосредственно в колонку.

Термостат, обеспечивающий нагрев колонки до температуры не менее 260 °С с точностью ±1 °С.

Колонка хроматографическая из кварца для разделения цис- и трансизомеров жирных кислот длиной 100 м, внутренним диаметром 0,2 мм [например, SP-2560 (100 м; 0,25 мм)].

Детектор пламенно-ионизационный, с пределом детектирования $2 \cdot 10^{-12}$ гС/с, обеспечивающий нагрев до температуры выше температуры колонки.

Газ-носитель: азот газообразный, ос. ч. по ГОСТ 9293.

Вспомогательные газы:

- водород технический марки А по ГОСТ 3022 или водород электролизный от генератора;
- воздух класса 0 по ГОСТ 17433.

Программное обеспечение для обработки данных.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 или весы по нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт, с пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,005 г.

Термометр лабораторный жидкостной, с диапазоном измерения от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1,0 °С по ГОСТ 28498.

Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

Аппарат для отгонки растворителя при температуре не более 100 °С (например, испаритель ротационный).

Баня водяная термостатируемая, обеспечивающая поддержание температуры в интервале 0 °С—100 °С с погрешностью ± 2 °С.

Гомогенизатор роторный с четырехлопастным ножом, угловой скоростью вращения ножей 1000—10000 $мин^{-1}$, включающего емкость вместимостью 1,0 $дм^3$ (или блендер лабораторный).

Микрошприцы вместимостью 10 и 1 $мм^3$.

н-гексан х.ч. для хроматографии.

Гептан по ГОСТ 25828.

Идентификационная смесь метиловых эфиров жирных кислот, состоящая из 37 компонентов, массовой концентрации 10 мг/мл для хроматографии.

Колба К-1-250-29/32 по ГОСТ 25336.

Колбы Кн-1-500-29/32 ТС по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-150 ТС, В-1-600 ТС по ГОСТ 25336.

Ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 9147.

Шпатель металлический.

Палочки стеклянные оплавленные.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

8 Подготовка к проведению измерений

8.1 Подготовка проб

Объем пробы продукта должен обеспечить выделение из нее не менее 1 г жира.

8.1.1 Продукты без пищевкусовых добавок или с пищевкусовыми добавками, образующими с продуктом однородную структуру, кисломолочные продукты (например, с ароматизаторами)

Продукт максимально полно освобождают от упаковки, помещают в стакан вместимостью 500 $см^3$, тщательно растирают и нагревают на водяной бане до температуры (35 ± 2) °С, тщательно перемешивая шпателем до получения однородной смеси. Подготовленную пробу переносят в колбу вместимостью 500 $см^3$ с притертой пробкой и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

8.1.2 Продукты с отделяемыми пищевкусовыми компонентами (орехами, карамелью, фруктовыми наполнителями в виде кусочков, начинки и другими)

Из продукта максимально полно удаляют пищевкусовые компоненты и далее проводят подготовку по 8.1.1.

8.1.3 Продукты в глазури и/или декорированные

С поверхности глазированного и/или декорированного продукта полностью удаляют покрытие и/или декоративные пищевые продукты и далее проводят подготовку по 8.1.1.

8.1.4 Продукты с неотделяемыми пищевкусовыми компонентами (например, с маком)

Продукт массой 100—150 г помещают в стакан вместимостью 500 $см^3$, нагревают на водяной бане до температуры (32 ± 2) °С и гомогенизируют в течение 1—3 мин при частоте вращения ножей от 2000 до 5000 $мин^{-1}$ до получения однородной массы. Пробу переносят в колбу с притертой пробкой вместимостью 500 $см^3$ и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

Во избежание расслоения пробу для анализа отбирают сразу же после гомогенизации.

8.1.5 Многослойные продукты

При необходимости проведения определений в каждом отдельном слое многослойного продукта его замораживают и аккуратно разрезают на слои при температуре продукта не выше минус 12 °С. Каждый слой продукта помещают в отдельную колбу с притертой пробкой и далее проводят подготовку по 8.1.1.

8.1.6 Творог и творожные продукты

В фарфоровую ступку помещают 100—150 г продукта. Тщательно перемешивают, растирая продукт пестиком, и сразу же проводят процедуру выделения жировой фазы.

8.1.7 Сыры

100—150 г сыра измельчают на мелкой терке.

8.2 Выделение жировой фракции

8.2.1 Молоко и жидкие молочные продукты

Анализируемую пробу продукта с массовой долей жира более 3 % объемом 100 $см^3$ помещают в две центрифужные пробирки (по 50 $см^3$ в каждую). Для продуктов с массовой долей жира менее 3 % объем пробы увеличивают.

Пробирки помещают в центрифугу и центрифугируют при 10000 $мин^{-1}$ в течение (15 ± 1) мин.

Для молока по окончании центрифугирования отбирают верхнюю жировую фракцию и помещают в стакан вместимостью 250 $см^3$. Добавляют 150 $см^3$ гексана, аккуратно перемешивают блендером на максимальных оборотах в течение 1 мин или гомогенизируют в течение 3—5 мин при частоте вращения ножей от 2000 до 5000 $мин^{-1}$. Отделяют гексановый слой с растворенным в нем жиром и переносят его в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$. И далее проводят процедуры по 8.2.3.

Для жидких кисломолочных продуктов декантируют отделившуюся сыворотку, а всю оставшуюся фракцию переносят в стакан вместимостью 250 $см^3$, используя 150 $см^3$ гексана. Полученную смесь аккуратно перемешивают блендером на максимальных оборотах в течение 1 мин или гомогенизируют в течение 3—5 мин при частоте вращения ножей от 2000 до 5000 $мин^{-1}$, отделяют гексановый слой с растворенным в нем жиром и переносят его в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$. И далее проводят процедуры по 8.2.3.

8.2.2 Молочная продукция

Продукт помещают в стакан вместимостью 250 $см^3$ в количестве, обеспечивающем получение не менее 1 г жира: для продуктов с массовой долей жира более 15 % — масса пробы 20,0 г; для продуктов с массовой долей жира менее 15 %—50,0 г.

Добавляют 150 $см^3$ гексана, аккуратно перемешивают блендером на максимальных оборотах в течение 1 мин или гомогенизируют в течение 3—5 мин при частоте вращения ножей от 2000 до 5000 $мин^{-1}$, отделяют гексановый слой с растворенным в нем жиром и полностью переносят его в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$.

8.2.3 Круглодонную колбу подсоединяют к ротационному испарителю и полностью отгоняют растворитель при температуре (70 ± 2) °С.

Полученная жировая фракция используется для приготовления метиловых эфиров жирных кислот.

8.3 Получение метиловых эфиров жирных кислот из триглицеридов переэтерификацией с метанольным раствором метилата натрия

8.3.1 Приготовление метиловых эфиров жирных кислот проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 31665.

8.3.2 Хранение метиловых (этиловых) эфиров жирных кислот

Готовые гептановые (гексановые) растворы метиловых эфиров жирных кислот хранят при температуре (6 ± 2) °С не более 2 сут.

При длительном хранении растворов их консервируют, добавляя раствор антиокислителя концентрацией, не мешающей дальнейшему ходу испытаний [например, раствор ВНТ (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) концентрации 0,05 г/дм^3].

Смеси метиловых эфиров, содержащие эфиры масляной кислоты, хранят только в герметичных ампулах. Следует принимать меры предосторожности во избежание потерь метиловых эфиров во время заполнения и запаивания ампул.

8.4 Подготовка хроматографа

Подготовку хроматографа к работе проводят в соответствии с прилагаемой к хроматографу инструкцией.

9 Проведение измерения

9.1 Работа с хроматографом — в соответствии с руководством по эксплуатации прибора.

9.2 Разделение и идентификацию жировой фазы проводят с применением газового хроматографа с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой (например, Supelco SP-2560).

В качестве газа-носителя используется азот.

Как рекомендуемые на хроматографе устанавливают следующие параметры для проведения измерения:

- начальная температура колонки — 140 °С;
- изотермический участок — 5 мин;
- конечная температура колонки — 240 °С, доводится со скоростью 4 °С/мин;
- время анализа — 50 мин;
- температура детектора — 260 °С;
- температура испарителя — 230 °С.

В качестве идентификационной смеси используют смесь, состоящую из метиловых эфиров жирных кислот (37 компонентов).

Для управления режимами анализа, записи хроматограмм и обработки полученной информации используется программное обеспечение.

9.3 Хроматографирование метиловых эфиров жирных кислот идентификационной смеси и анализируемой пробы (8.3) проводят в идентичных условиях. Микрошприцем отбирают от 0,1 до 2 см^3 раствора метиловых эфиров жирных кислот и вводят в хроматограф. Примеры хроматограмм идентификационной смеси и сырого коровьего молока приведены в приложении А.

Расчет состава метиловых эфиров жирных кислот проводят методом внутренней нормализации, используя программное обеспечение хроматографа, или по разделу 10.

10 Обработка результатов измерений

10.1 Расчет состава метиловых эфиров жирных кислот проводится методом внутренней нормализации.

Площадь пика компонента S_i, мм^2, вычисляют по формуле

$$S_i = h_i \cdot a_i, \quad (1)$$

где h_i — высота пика, мм;

a_i — ширина, измеренная на половине высоты, мм.

Сумму площадей всех пиков на хроматограмме ΣS_i принимают за 100 %.

Массовую долю каждой жирной кислоты X_i, %, вычисляют по формуле

$$X_i = S_i \cdot 100/\Sigma S_i, \quad (2)$$

где S_i — площадь пика метилового эфира, мм^2;

ΣS_i — сумма площадей всех пиков на хроматограмме, мм^2.

За окончательный результат измерений принимается среднеарифметическое значение результатов двух измерений, выполненных в условиях повторяемости (ГОСТ ISO 5725-1, пункт 3.14), округленное до второго десятичного знака.

10.2 Контроль точности результатов измерений

Приписанные характеристики погрешности и ее составляющих метода определения жирнокислотного состава жировой фазы продукта при P = 0,95 приведены в таблице 1.

Таблица 1

Диапазон измерений массовой доли жирных кислот, %	Предел повторяемости r, %	Предел воспроизводимости R, %	Границы абсолютной погрешности $\pm\Delta$, %
Менее 5,0	0,2	0,5	0,4
5,0 и более	1,0	3,0	2,2

11 Проверка приемлемости результатов измерений

11.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов определения жирнокислотного состава жировой фазы исследуемого продукта, полученных в условиях повторяемости (два последовательных определения, $n = 2$), проводят с учетом требований ГОСТ ISO 5725-6 (пункт 5.2.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|X_1 - X_2| \le r,$$

где X_1, X_2 — значения результатов двух последовательных определений жирнокислотного состава жировой фазы продукта, полученных в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости (сходимости), значение которого приведено в таблице 1, %.

Если данное условие не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 5725-6 (пункт 5.2.2).

При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

11.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов определения жирнокислотного состава жировой фазы исследуемого продукта, полученных в условиях воспроизводимости (в двух лабораториях, $m = 2$), проводят с учетом требований ГОСТ ISO 5725-6.

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми при условии

$$|X_1' - X_2'| \le R,$$

где X_1', X_2' — значения результатов двух определений жирнокислотного состава жировой фазы продукта, полученных в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 1, %.

Если данное условие не выполняется, то выполняют процедуры в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 5725-6 (пункт 5.3.3).

12 Оформление результатов

Результат определения жирнокислотного состава жировой фазы исследуемого продукта представляют в документах, предусматривающих его использование, в виде

$$A = X_{ср} \pm \Delta, \text{ при } P = 0{,}95,$$

где $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух последовательных определений, %;

Δ — границы абсолютной погрешности измерений, % (таблица 1).

13 Требования, обеспечивающие безопасность

13.1 При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005;

- требования техники безопасности при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;

- требования техники безопасности при работе с электроустановками в соответствии с ГОСТ 12.1.019.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

13.2 Требования к оператору

Выполнение измерений может проводить специалист, имеющий специальное образование, освоивший метод и уложившийся в норматив контроля точности при выполнении процедур контроля точности.

Приложение А
(справочное)

Примеры хроматограмм идентификационной смеси и сырого коровьего молока

А.1 Примеры хроматограмм приведены на рисунках А.1, А.2.

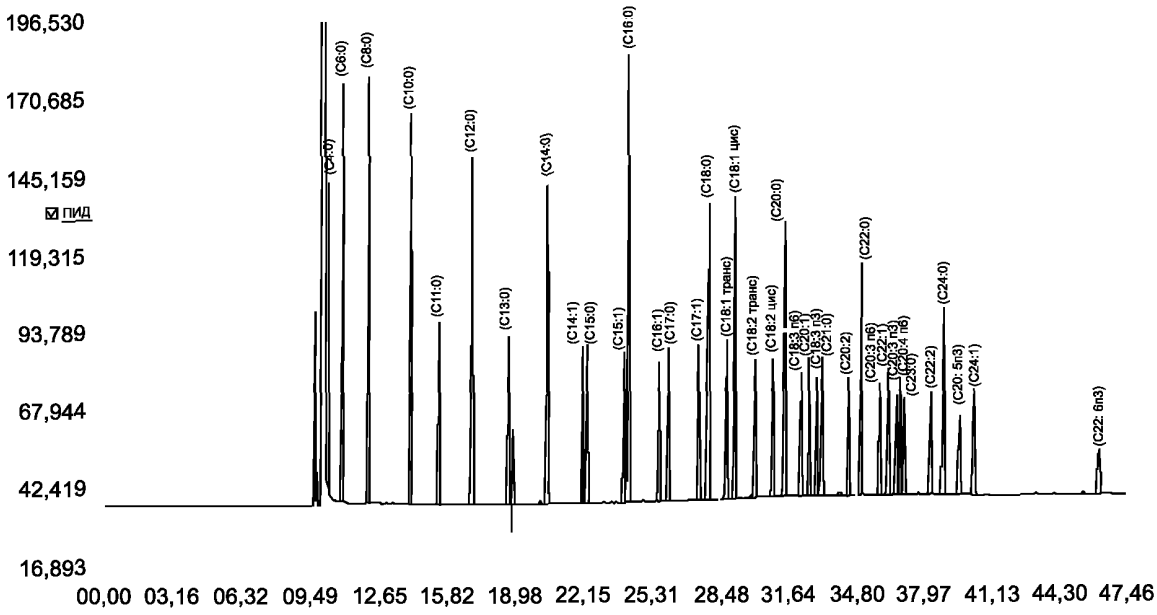

Рисунок А.1 — Хроматограмма идентификационной смеси

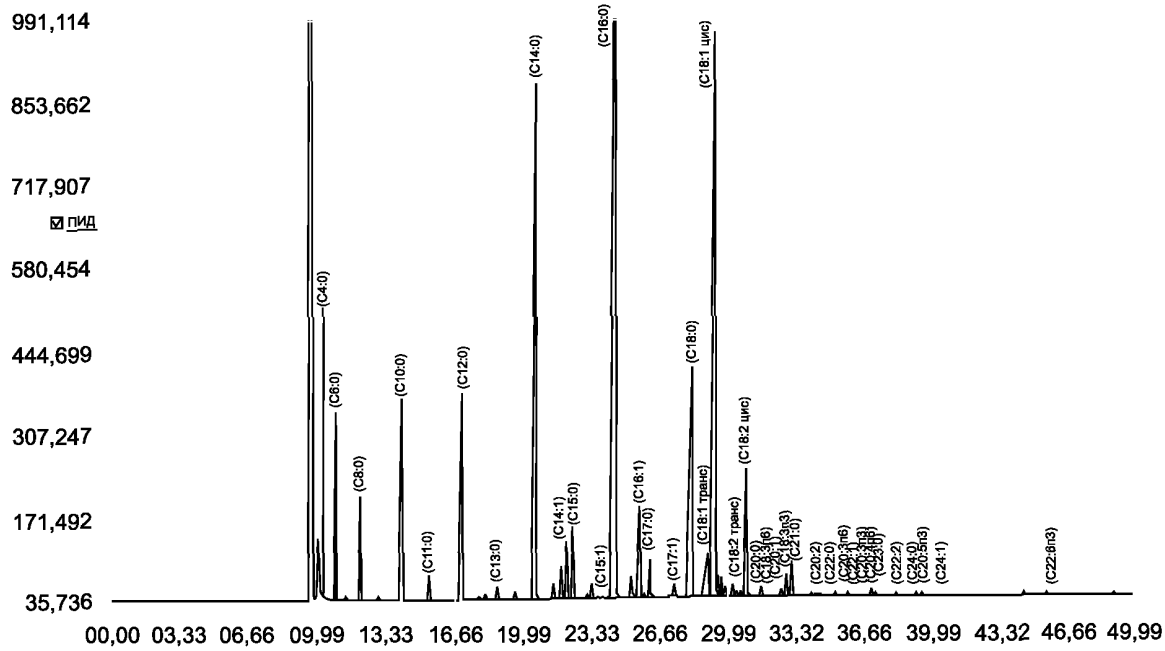

Рисунок А.2 — Хроматограмма сырого коровьего молока

УДК 637.147.2:543.06:006.354 МКС 67.100.10

Ключевые слова: молоко, молочная продукция, жирнокислотный состав, газовая хроматография, условия проведения измерений, отбор проб, обработка результатов измерений, оформление результатов

Редактор *Н.А. Аргунова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 24.03.2015. Подписано в печать 07.04.2015. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,40.
Уч.-изд. л. 1,05. Тираж 56 экз. Зак. 1516.

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

gost.e-ecolog.ru