
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
56416—
2015

ПРОДУКТЫ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ НА МОЛОЧНОЙ ОСНОВЕ

Определение содержания Омега-3
и Омега-6 жирных кислот
методом газовой хроматографии

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2015

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным Государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГБНУ «ВНИМИ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 036 «Продукция пищевая специализированная»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 мая 2015 г. № 507-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии (www.gost.ru)

© Стандартиформ, 2015

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

ПРОДУКТЫ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ НА МОЛОЧНОЙ ОСНОВЕ

Определение содержания Омега-3 и Омега-6 жирных кислот
методом газовой хроматографии

Specialized milk-based products.

Determination of Omega-3 and Omega-6 fatty acids by gas chromatography

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на специализированные продукты на молочной основе (далее — продукты) и устанавливает газохроматографический метод определения содержания Омега-3 и Омега-6 жирных кислот.

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 12.4.009—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 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 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

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 подготовки 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 подготовки 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

ГОСТ Р 12.1.019—2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

П р и м е ч а н и е — 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 заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 Омега-3 жирные кислоты: Незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты, имеющие три и более двойных углерод — углеродных связей, имеющие первую двойную связь у третьего углерода от конца метиловой группы, отвечают общей формуле $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—(CH=CH—CH}_2\text{)}_n\text{—(CH}_2\text{)}_m\text{—COOH}$, где $n \geq 3$ (у-линоленовая, эйкозапентаеновая, докозагексаеновая).

3.2 Омега-6 жирные кислоты: Незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты, имеющие две и более двойных углерод — углеродных связей, имеющие первую двойную связь у шестого углерода от конца метиловой группы, отвечают общей формуле $\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_4\text{—(CH=CH—CH}_2\text{)}_n\text{—(CH}_2\text{)}_m\text{—COOH}$, где $n \geq 2$ (арахидоновая кислота).

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.

5 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 транс-изомеров жирных кислот длиной 100 м, внутренним диаметром 0,2 мм;
- детектор пламенно-ионизационный, с пределом детектирования 2×10^{-12} гС/с, обеспечивающий нагрев до температуры выше температуры колонки;
- газ-носитель: азот газообразный по ГОСТ 9293, ос. ч.;

- вспомогательные газы:

а) водород технический по ГОСТ 3022, марки А или водород электролизный от генератора;

б) воздух по ГОСТ 17433 класса 0;

- программное обеспечение для обработки данных.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределом допускаемой абсолютной погрешности $\pm 0,005$ г.

Термометр лабораторный жидкостный, 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, ротационный испаритель).

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

Гомогенизатор роторный с четырехлопастным ножом, угловой скоростью вращения ножей (1000—10000) мин⁻¹, включающий емкость вместимостью 1,0 дм³ (или блендер лабораторный).

Центрифуга с частотой вращения не менее 10000 об/мин.

Микрошприцы вместимостью 10 мм³ и 1 мм³.

n-Гексан химически чистый для хроматографии.

Гептан по ГОСТ 25828.

Идентификационная смесь метиловых эфиров жирных кислот, включающая не менее 37 компонентов, имеющая в своем составе в том числе жирные кислоты Омега-3 и Омега-6, массовой концентрацией 10 мг/см³ 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-1-250 ТС, В-1-500 ТС по ГОСТ 25336.

Цилиндр 1-250-2 по ГОСТ 1770.

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 обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

6 Отбор проб

Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 26809.1, ГОСТ 26809.2.

7 Подготовка к проведению измерений

7.1 Подготовка проб

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

7.1.2 Продукты без пищевых ингредиентов или с пищевыми ингредиентами, образующими с продуктом однородную консистенцию (например, с ароматизаторами), кисломолочные продукты

Продукт максимально полно освобождают от упаковки, помещают в стакан вместимостью 500 см³, тщательно растирают и нагревают на водяной бане до температуры (35 ± 2) °С, перемешивая шпателем до получения однородной смеси. Подготовленную пробу переносят в колбу вместимостью 500 см³ с притертой пробкой и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

7.1.3 Продукты с отделяемыми пищевыми ингредиентами (орехи, карамель, фруктовые наполнители в виде кусочков, начинки и другие)

Из продукта максимально полно удаляют пищевкусные компоненты и далее проводят подготовку по 7.1.2.

7.1.4 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 7.1.2.

7.1.5 Продукты с неотделяемыми пищевыми ингредиентами (например, с маком)

Продукт массой 100—150 г помещают в стакан вместимостью 500 см³, нагревают на водяной бане до температуры $(32 \pm 2)^\circ\text{C}$ и гомогенизируют в течение 1—3 мин при частоте вращения ножей от 2000 мин⁻¹ до 5000 мин⁻¹ до получения однородной массы. Пробу переносят в колбу с притертой пробкой вместимостью 500 см³ и охлаждают до температуры $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$.

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

7.1.6 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°C . Каждый слой продукта помещают в отдельную колбу с притертой пробкой и далее проводят подготовку по 7.1.2.

7.1.7 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.

7.1.8 Сыры и сырные продукты

100—150 г сыра измельчают на мелкой терке. Тщательно перемешивают, растирая продукт пестиком, и сразу же проводят процедуру выделения жировой фазы.

7.2 Выделение жировой фракции**7.2.1 Молоко и жидкие молочные продукты**

Анализируемую пробу продукта с массовой долей жира более 3 % объемом 100 см³ помещают в две центрифужные пробирки (по 50 см³ в каждую). Для продуктов с массовой долей жира менее 3 % объем пробы увеличивают.

Пробирки помещают в центрифугу и центрифугируют при 10000 об/мин в течение (15 ± 1) мин.

По окончании центрифугирования отбирают верхнюю жировую фракцию и помещают в стакан вместимостью 250 см³. Добавляют 150 см³ 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. Гексановый слой с растворенным в нем жиром переносят в круглодонную колбу вместимостью 250 см³. Далее проводят процедуры по 7.2.3.

Для жидких кисломолочных продуктов декантируют отделившуюся сыворотку, а всю оставшуюся фракцию количественно переносят в стакан вместимостью 250 см³, используя 150 см³ 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 см³. Далее проводят процедуры по 7.2.3.

7.2.2 Молочные продукты (пастообразные, сухие, сгущенные и др.)

Продукт помещают в стакан вместимостью 250 см³ 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 см³ 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 см³.

7.2.3 Круглодонную колбу подсоединяют к ротационному испарителю и полностью отгоняют растворитель при температуре $(70 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Полученную жировую фракцию используют для приготовления метиловых эфиров жирных кислот.

7.3 Получение метиловых эфиров жирных кислот из триглицеридов перэтерификацией с метанольным раствором метилата натрия

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

7.3.2 Хранение метиловых эфиров жирных кислот

Готовые гептановые (гексановые) растворы метиловых эфиров жирных кислот хранят при температуре $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ 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) концентрацией 0,05 г/дм³).

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 Условия проведения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны соблюдаться следующие условия:

температура окружающего воздуха	(20 ± 5) °C;
относительная влажность воздуха	(55 ± 25) %;
атмосферное давление	(96 ± 10) кПа;
частота переменного тока	(50 ± 5) Гц;
напряжение в сети	(220 ± 10) В.

9 Проведение измерений

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

9.2 Разделение и идентификацию проводят с применением газового хроматографа с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой.

В качестве газа носителя используют азот.

Как рекомендуемые на хроматографе устанавливают следующие параметры для проведения измерения:

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

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

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

9.3 Хроматографирование метиловых эфиров жирных кислот идентификационной смеси и анализируемой пробы (см. 7.3) проводят в идентичных условиях. Микрошприцем отбирают от 0,1 см³ до 2 см³ раствора метиловых эфиров жирных кислот и вводят в хроматограф.

Пример хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот, включая Омега-3 и Омега-6, молочного продукта приведен в приложении А.

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

10 Обработка результатов измерений

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

Площадь пика компонента S_i , мм², 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 $\sum S_i$ принимают за 100 %.

Массовую долю Омега-3 и Омега-6 жирных кислот, X_i %, вычисляют по формуле

$$X_i = \frac{S_i \cdot 100}{\sum S_i}, \quad (2)$$

где S_i — площадь пика метилового эфира, мм²;

$\sum S_i$ — сумма площадей всех пиков на хроматограмме, мм².

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

10.2 Контроль точности результатов измерений

Приписанные характеристики погрешности и ее составляющих метода определения Омега-3 и Омега-6 жирных кислот при $P = 0,95$ приведены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Диапазон измерений массовой доли Омега-3 и Омега-6 жирных кислот, %	Предел повторяемости r , %	Предел воспроизводимости R , %	Границы абсолютной погрешности, $\pm \Delta$, %
Менее 5,00	0,20	0,50	0,40
5,00 и более	0,40	0,60	0,45

10.3 Расчет массовой доли Омега-3 и Омега-6 жирных кислот в 100 г продукта X_{i2} , %, проводят по формуле

$$X_{i2} = \frac{X_i}{X_m} \cdot 100, \quad (3)$$

где X_i — массовая доля Омега-3 или Омега-6 жирной кислоты, вычисленная по формуле (2), %;

X_m — массовая доля жира в продукте, измеренная по соответствующим нормативным документам, %;

100 — коэффициент пересчета в проценты.

11 Проверка приемлемости результатов измерений

11.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений массовой доли Омега-3 и Омега-6 жирных кислот исследуемого продукта, полученных в условиях повторяемости, проводят с учетом требований ГОСТ Р ИСО 5725-6 (пункт 5.2.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии:

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

где X_1, X_2 — значения результатов двух последовательных измерений массовой доли Омега-3 и Омега-6 жирных кислот, 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 Р ИСО 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 измерений массовой доли Омега-3 и Омега-6 жирных кислот исследуемого продукта, полученных в условиях воспроизводимости (в двух лабораториях) проводят с учетом требований ГОСТ Р ИСО 5725-6.

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

$$|X'_1 - X'_2| \leq R, \quad (5)$$

где X'_1, X'_2 — значения результатов двух измерений Омега-3 и Омега-6 жирных кислот, 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 Р ИСО 5725-6 (пункт 5.3.3).

12 Оформление результатов

Результат измерений массовой доли Омега-3 и Омега-6 жирных кислот анализируемого продукта представляют в документах, предусматривающих его использование, в виде:

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

где $X_{\text{ср}}$ — среднееарифметическое значение результатов двух последовательных измерений, %;
 Δ — границы абсолютной погрешности измерений, % (см. таблицу 1).

13 Требования безопасности

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 Р 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)

Пример хроматограммы определения Омега-3 и Омега-6 жирных кислот в молочном продукте

А.1 Пример хроматограммы определения Омега-3 и Омега-6 жирных кислот в молочном продукте приведен на рисунке А.1.

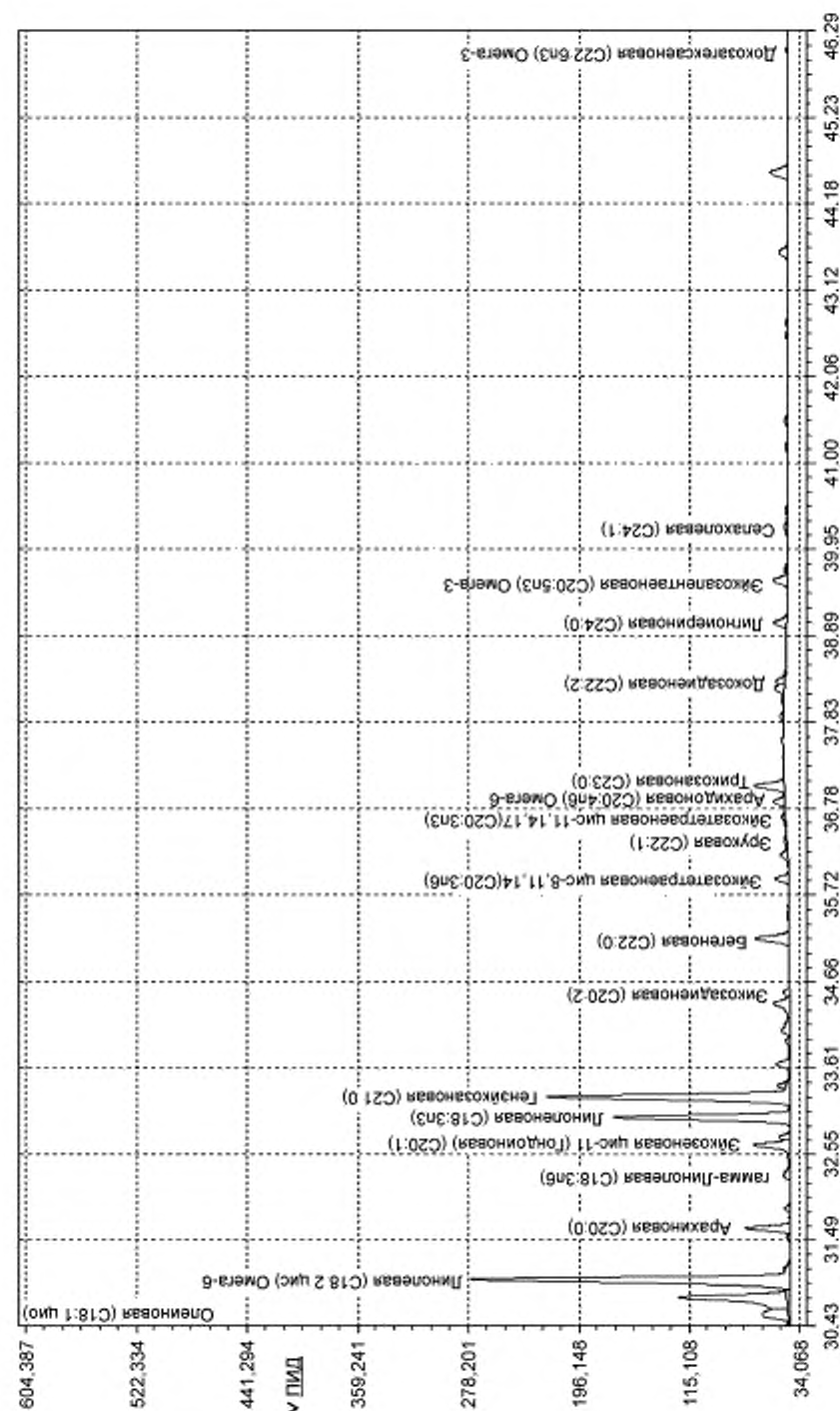


Рисунок А.1

УДК 637.12.04/07:543.544:006.354

ОКС 67.100.10

Ключевые слова: продукты специализированные на молочной основе, жирные кислоты, Омега-3 жирные кислоты, Омега-6 жирные кислоты, газовая хроматография

Редактор *Д.А. Мезинова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 11.08.2015. Подписано в печать 03.09.2015. Формат 60 × 84 $\frac{1}{8}$. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,00. Тираж 38 экз. Зяж. 2916.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru