

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора БелГИМ

Т.А. Коломиец

«__»_____2009 г.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра
Главный государственный санитарный
врач Республики Беларусь

В.И. Качан

«__»_____2009 г.

**МЕТОДИКА
ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (НЖК) И
ПОЛИЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (ПНЖК) КЛАССОВ ω -3, ω -6 В СЫРЬЕ И
ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ**

МВИ МН -2009

Минск 2009

СОДЕРЖАНИЕ

1	Область применения	3
2	Показатели прецизионности методики	4
3	Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы, материалы	5
4	Метод измерения	6
5	Требования безопасности	6
6	Требования к квалификации оператора	7
7	Условия выполнения измерений	7
8	Подготовка к выполнению измерений	7
9	Выполнение измерений	11
10	Обработка результатов измерений	11
11	Оформление результатов испытаний	12
12	Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости	13
13	Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрिलाбораторной воспроизводимости	14
14	Проверка стабильности результатов испытаний	14
	<i>Приложение А</i> Нормативные ссылки	17
	<i>Приложение Б</i> Бюджет неопределенности измерений	18

1 Область применения

Методика предназначена для определения содержания насыщенных жирных кислот (ЖК) и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) классов ω -3 (содержат первую двойную связь у третьего углеродного атома, считая от концевой метильной группы) и ω -6 (содержат первую двойную связь у шестого углеродного атома, считая от концевой метильной группы)

- в сырье для изготовления детского питания (молоко-сырье, фрукты, овощи);

- готовой продукции для детского питания от 0 до 3 лет и выше (молоко сухое для детского питания, молочные смеси, специализированные молочные продукты, кисломолочные продукты, каши сухие молочные, плодоовощные консервы, мясорастительные консервы, мороженое).

Наименования жирных кислот приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Наименования жирных кислот

Наименование жирной кислоты	Наименование жирной кислоты по номенклатуре IUPAC	Условное обозначение
<i>Насыщенные ЖК</i>		
Масляная	Бутановая	C _{4:0}
Капроновая	Гексановая	C _{6:0}
Каприловая	Октановая	C _{8:0}
Каприновая	Декановая	C _{10:0}
Лауриновая	Додекановая	C _{12:0}
Миристиновая	Тетрадекановая	C _{14:0}
Пальмитиновая	Гексадекановая	C _{16:0}
Стеариновая	Октадекановая	C _{18:0}
Арахидовая	Эйкозановая	C _{20:0}
Бегеновая	Докозановая	C _{22:0}
Лигноцериновая	Тетракозановая	C _{24:0}
<i>ω-3 ПНЖК</i>		
α -Линоленовая	Цис-9,12,15-октадекатриеновая	C _{18:3 n3}
Эйкозапентаеновая	Цис-5,8,11,14,17-эйкозапентаеновая	C _{20:5 n3}
Докозагексаеновая	Цис-4,7,10,13,16,19-докозагексаеновая	C _{22:6 n3}
<i>ω-6 ПНЖК</i>		
Линолевая	Октадекадиеновая	C _{18:2 n6}
γ -Линоленовая	Цис-6,9,12-октадекатриеновая	C _{18:3 n6}
Арахидоновая	Цис-5,8,11,14-эйкозатетраеновая	C _{20:4 n6}

Метод определения основан на экстракции липидов из продукта органическими растворителями, переэтерификации с метанольным раствором метилата натрия с получением метиловых эфиров (МЭ) жирных кислот, газохроматографическом разделении последних и их количественном определении по методу абсолютной градуировки.

Диапазоны измерений жирных кислот и нижние пределы измерения методики (LOQ) приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Диапазоны измерений жирных кислот и нижние пределы измерения методики

Наименование жирной кислоты	Диапазон измерений, мг/100г	Нижние пределы измерения методики (LOQ), мг/100 г
Масляная	0,1-1500	0,1
Капроновая	0,1-1500	0,1
Каприловая	0,1-1500	0,1
Каприновая	0,1-1500	0,1
Лауриновая	1,0- 4500	1,0
Миристиновая	1,0- 4500	1,0
Пальмитиновая	1,0- 4500	1,0
Стеариновая	1,0- 4500	1,0
Линолевая	1,0- 4500	1,0
γ-Линоленовая	0,1-750	0,1
α-Линоленовая	0,1-1500	0,1
Арахидиновая	0,1-1500	0,1
Бегеновая	0,1-1500	0,1
Лигноцериновая	0,1-300	0,1
Арахидононовая	0,1-300	0,1
Эйкозапентаеновая	0,1-300	0,1
Докозагексаеновая	0,1-300	0,1

2 Показатели прецизионности методики

Относительные значения показателей прецизионности (повторяемости и промежуточной внутрилабораторной воспроизводимости) при доверительной вероятности $P=0,95$ МВИ представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Относительные значения показателей повторяемости, внутрилабораторной воспроизводимости, пределов повторяемости и пределов внутрилабораторной воспроизводимости при доверительной вероятности $P=0,95$

Наименование жирной кислоты	Диапазон измерений, мг/100г	Показатель повторяемости, %	Показатель внутрилабораторной воспроизводимости, %	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений), %	Предел внутрилабораторной воспроизводимости (для двух результатов анализа), %
		σ_r	σ_R	r	R
Миристиновая	0,1-4500	0,8	1,3	2,2	3,8
Каприновая	0,1-1500	2,3	2,9	6,5	8,3
Лауриновая	0,1-4500				
Каприловая	0,1-1500	3,3	3,8	9,4	10,7
Стеариновая	1,0- 4500				
Линолевая	1,0- 4500				
Бегеновая	1,0- 1500				
Масляная	1,0- 1500	4,0	4,9	11,1	13,7
Пальмитиновая	1,0- 4500				
γ-Линоленовая	0,1-750				
α-Линоленовая	0,1-1500				
Лигноцериновая	0,1-300	4,9	7,0	13,8	19,7
Капроновая	0,1-1500	5,0	5,5	14,0	15,3
Арахидиновая	0,1-1500				
Арахидононовая	0,1-300				
Эйкозапентаеновая	0,1-300				
Докозагексаеновая	0,1-300				

Относительные значения расширенной относительной неопределенности МВИ при $P=0,95$ указаны в таблице 4.

Таблица 4 – Относительные значения расширенной относительной неопределенности МВИ при доверительной вероятности $P=0,95$

Наименование жирной кислоты	Диапазон измерений, мг/100г	Расширенная относительная стандартная неопределенность, % U
Масляная	0,1-1500	34
Капроновая	0,1-1500	26
Каприловая	0,1-1500	31
Каприновая	0,1-1500	32
Лауриновая	1,0- 4500	11
Миристиновая	1,0- 4500	11
Пальмитиновая	1,0- 4500	16
Стеариновая	1,0- 4500	13
Линолевая	1,0- 4500	13
γ -Линоленовая	0,1-750	30
α -Линоленовая	0,1-1500	22
Арахидиновая	0,1-1500	37
Бегеновая	0,1-1500	29
Лигноцериновая	0,1-300	35
Арахидононовая	0,1-300	28
Эйкозапентаеновая	0,1-300	24
Докозагексаеновая	0,1-300	31

3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1 Средства измерений

Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором

Весы лабораторные ВЛР 200, 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г

ГОСТ 24104-2001

Колбы мерные

2-50-2

ГОСТ 1770-74

(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)

2-100-2

ГОСТ 1770-74

(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)

Пипетки градуированные

1-1-2-5

ГОСТ 29227-91

(ИСО 835-1-81)

1-1-2-25

ГОСТ 29227-91

(ИСО 835-1-81)

1-1-2-2

ГОСТ 29227-91

(ИСО 835-1-81)

1-1-2-1

ГОСТ 29227-91

(ИСО 835-1-81)

Пробирка со шлифом

П-2-(5,10) 14/23 ХС

ГОСТ 1770-74

Микрошприц типа МШ-10

ТУ 6-20005Е2.833.106

3.2 Вспомогательные устройства и оборудование

Колонка капиллярная кварцевая HP-88 100 м x 0,25 мм, толщина слоя жидкой фазы 0,2 мкм	фирма Agilent № 112-88A7
Испаритель ротационный	фирма Buchi
Морозильная камера	
Система регистрации, хранения и обработки спектрометрической информации ЮНИХРОМ 97	ТУ РБ 14597800.001-98

3.3 Реактивы и материалы

Гелий газообразный сжатый	ТУ 51-940-80
Аргон газообразный, высший сорт	ГОСТ 10157-79
Водород, вырабатываемый электролитически с помощью генератора чистого водорода ГВЧ-12	марка «А» ГОСТ 3022-80
Воздух сжатый	ГОСТ 17433-80
Гексан, хч	ТУ 2631-018-04683480-2007
Метилат натрия (25% раствор в метаноле)	CAS RN * [124-41-4]
Метиловый эфир масляной кислоты	CAS RN [623-42-7]
Метиловый эфир капроновой кислоты	CAS RN [106-70-7]
Метиловый эфир каприловой кислоты	CAS RN [111-11-53]
Метиловый эфир каприновой кислоты	CAS RN [110-42-9]
Метиловый эфир лауриновой кислоты	CAS RN [111-82-0]
Метиловый эфир миристиновой кислоты	CAS RN [124-10-71]
Метиловый эфир пальмитиновой кислоты	CAS RN [112-39-0]
Метиловый эфир стеариновой кислоты	CAS RN [112-61-8]
Метиловый эфир арахидиновой кислоты	CAS RN [1120-28-1]
Метиловый эфир бегеновой кислоты	CAS RN [929-77-1]
Метиловый эфир лигноцереновой кислоты	CAS RN [2442-49-1]
Метиловый эфир линолевой кислоты	CAS RN [112-63-0]
Метиловый эфир α -линоленовой кислоты	CAS RN [301-00-8]
Метиловый эфир γ -линоленовой кислоты	CAS RN [16326-32-2]
Метиловый эфир арахидиновой кислоты	CAS RN [2566-89-4]
Метиловый эфир эйкозапентаеновой кислоты	CAS RN [2734-47-6]
Метиловый эфир докозагексаеновой кислоты	CAS RN [301-01-9]

Могут быть использованы другие средства измерения и вспомогательные устройства по метрологическим и техническим характеристикам, не уступающие рекомендуемым, а также реактивы не ниже указанной чистоты.

4 Метод измерения

Метод определения основан на экстракции липидов продукта органическими растворителями, переэтерификации с метанольным раствором метилата натрия, газохроматографическом разделении последних и их количественном определении по методу абсолютной градуировки.

5 Требования безопасности

При выполнении работ персонал должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования:
- электробезопасности (ГОСТ 12.2.003);

* - регистрационный номер по Chemical Abstracts для поиска по каталогу продукции Sigma и по базе данных

- пожарной безопасности (ГОСТ 12.1.004);
- техники безопасности при работе в химической лаборатории (ППБ 1.04);
- техники безопасности, изложенные в эксплуатационных документах на средства измерений и оборудование, применяемые при проведении измерений.

6 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений могут быть допущены лица, имеющие высшее образование, изучившие настоящую методику, прошедшие подготовку для работы на хроматографе.

7 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории согласно ГОСТ 15150 и ТКП 183.1 должны быть соблюдены следующие условия:

- температура воздуха при приготовлении растворов $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$;
- температура воздуха при выполнении измерений $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$;
- атмосферное давление (630 – 800) мм рт. ст.;
- влажность воздуха $(65 \pm 15) \%$ при температуре 25°C ;
- напряжение питающей сети $(230 \pm 10)\text{В}$;
- частота переменного тока $(90 \pm 0,4)\text{Гц}$.

Помещения для проведения измерений должны быть оснащены приточно-вытяжной вентиляцией и подводкой воды.

8 Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений должны быть проведены следующие работы: подготовка измерительной аппаратуры, приготовление стандартных растворов, отбор и подготовка проб к анализу.

8.1 Подготовка измерительной аппаратуры

Включают газовый хроматограф согласно инструкции по эксплуатации. Устанавливают рабочие режимы для термостата колонок, испарителя и детектора. Проводят стабилизацию работы хроматографа в рабочих режимах в течение 20-30 мин. Работа газового хроматографа считается стабильной, если дрейф нулевого сигнала не превышает 1 – 2 % (0,000005-0,000008 мВ) от шкалы регистрации сигнала при максимальной чувствительности.

8.2 Приготовление растворов

8.2.1 Приготовление основного стандартного раствора метиловых эфиров жирных кислот концентрацией $0,1 \text{ мг/см}^3$ (стандартный раствор А)

На часовом стекле взвешивают с точностью $\pm 0,0001 \text{ г}$ по 10 мг метиловых эфиров масляной, капроновой, каприловой, каприновой, γ -линоленовой, α -линоленовой, арахидиновой, бегеновой, лигноцериновой, арахидоновой, эйкозапентаеновой, докозагексаеновой кислот. С помощью гексана навески МЭ ЖК переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 , колбу

встряхивают до полного растворения веществ, доводят гексаном до метки при $(20\pm 2)^{\circ}\text{C}$ и перемешивают. Полученный раствор хранят в морозильной камере холодильника. Годен в течение 6 месяцев.

8.2.2 Приготовление основного стандартного раствора метиловых эфиров жирных кислот концентрацией 1 мг/см^3 (стандартный раствор Б)

На часовом стекле взвешивают с точностью $\pm 0,0001 \text{ г}$ по 100 мг метиловых эфиров лауриновой, миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, линолевой кислот. С помощью гексана навески МЭ ЖК переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 , колбу встряхивают до полного растворения веществ, доводят гексаном до метки при $(20\pm 2)^{\circ}\text{C}$ и перемешивают. Полученный раствор хранят в морозильной камере холодильника. Годен в течение 6 месяцев.

8.2.3 Приготовление градуировочных растворов МЭ ЖК

Градуировочные растворы МЭ ЖК (серии А и Б) готовят из основных стандартных растворов А и Б по схеме, представленной в таблице 5

Таблица 5 – Схема приготовления градуировочных растворов МЭ ЖК

№ градуировочного раствора	Концентрация МЭ ЖК в градуировочном растворе, мг/см^3	Объем аликвоты основного стандартного раствора МЭ ЖК, см^3	Объем пипетки, для отбора аликвоты основного стандартного раствора, см^3	Объем мерной колбы, см^3
А (МЭ масляной, капроновой, каприловой, каприновой, γ -линоленовой, α -линоленовой, арахидиновой, бегеновой, лигноцеридовой, арахидиновой, эйкозапентаеновой, докозагексаеновой кислот)				
1	0,005	2,5	5	50
2	0,010	5	5	50
3	0,030	15	25	50
4	0,040	20	25	50
5	0,050	25	25	50
Б (МЭ лауриновой, миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, линолевой кислот)				
1	0,050	2,5	5	50
2	0,100	5	5	50
3	0,300	15	25	50
4	0,400	20	25	50
5	0,500	25	25	50

Аликвотные части основных стандартных растворов МЭ ЖК переносят с помощью пипеток объемом 5 или 25 см³ в мерные колбы объемом 50 см³ и доводят гексаном до метки при (20±2)°С. Полученные растворы хранят в морозильной камере холодильника. Срок годности 6 месяцев.

8.3 Установление времени удерживания МЭ жирных кислот

Для определения времени удерживания МЭ жирных кислот используют по одному градуировочному раствору из серии (например, градуировочные растворы А5 и Б5), приготовленные по п.8.2.1. Растворы хроматографируют не менее 2-х раз.

Условия хроматографирования:

Объем вводимой пробы	1 мкл
Давление газа-носителя гелия на входе в колонку	180 кПа
Температура термостата колонки	начальная - 70 °С (изотерма 5 мин); программирование со скоростью 4 °С/мин; конечная - 240 °С (изотерма 35 мин)
Деление потока газа-носителя в испарителе	1:20
Температура испарителя	260°С
Температура детектора	260°С
Расход водорода	30 см ³ /мин
Расход воздуха	300 см ³ /мин

Вычисляют среднее арифметическое из величин времен удерживания эфира каждой кислоты, фиксируют и используют для идентификации МЭ жирных кислот в пробе.

Ориентировочные времена выхода метиловых эфиров жирных кислот:

МЭ масляной кислоты	15,7 ± 0,2 мин
МЭ капроновой кислоты	20,7 ± 0,2 мин
МЭ каприловой кислоты	27,0 ± 0,2 мин
МЭ каприновой кислоты	33,1 ± 0,2 мин
МЭ лауриновой кислоты	38,6 ± 0,2 мин
МЭ миристиновой кислоты	43,5 ± 0,2 мин
МЭ пальмитиновой кислоты	48,2 ± 0,2 мин
МЭ стеариновой кислоты	52,6 ± 0,2 мин
МЭ линолевой кислоты	55,6 ± 0,2 мин
МЭ арахидиновой кислоты	56,5 ± 0,2 мин
МЭ γ -линоленовой кислоты	56,9 ± 0,2 мин
МЭ α -линоленовой кислоты	57,7 ± 0,2 мин
МЭ бегеновой кислоты	60,5 ± 0,2 мин
МЭ арахидоновой кислоты	61,9 ± 0,2 мин
МЭ лигноцериновой кислоты	64,0 ± 0,2 мин
МЭ эйкозапентаеновой кислоты	64,9 ± 0,2 мин
МЭ докозагексаеновой кислоты	72,5 ± 0,2 мин

При анализе МЭ жирных кислот в продукте допустимое расхождение времен удерживания определяемых компонентов при хроматографировании двух параллельных проб не должно отличаться более чем на 2% от зафиксированных времен выхода. Если времена удерживания МЭ

жирных кислот отличаются от зафиксированных более чем на 2%, проверяют правильность установки температурных режимов программирования колонки и давления газа-носителя.

8.4 Установление градуировочной характеристики МЭ ЖК

Хроматографируют градуировочные растворы МЭ ЖК, приготовленные по п.8.2.3, начиная с самой низкой концентрации. По полученным хроматограммам измеряют площади пиков, соответствующих МЭ ЖК. Строят градуировочный график, выражающий зависимость площади пика МЭ ЖК на хроматограмме (по оси y) от концентрации соответствующих градуировочных растворов (по оси x). Градуировочные графики должны иметь линейный характер. Прямая градуировочного графика определяется зависимостью:

$$Y = bX + a, \quad (1)$$

где Y -площадь пика МЭ ЖК;

X – концентрация МЭ ЖК в градуировочном растворе;

a, b - коэффициенты регрессии.

Градуировочный график рассчитывается методом наименьших квадратов.

8.5. Контроль градуировочного графика

Контроль градуировочного графика осуществляется каждый раз перед началом измерений не менее чем по двум точкам в рабочем диапазоне градуировочного графика, исключая первую и последнюю. Расхождение между измеренной концентрацией МЭ ЖК в выбранном градуировочном растворе и его фактической концентрацией, выраженное в процентах, не должно превышать норматива контроля градуировочного графика $K_{гр}$:

$$\frac{|X_{измер} - X_{фактич}|}{X_{ср}} \times 100\% < K_{гр}, \quad (2)$$

где $X_{измер}$ – измеренная концентрация МЭ ЖК в выбранном градуировочном растворе;

$X_{фактич}$ – фактическая концентрация МЭ ЖК в выбранном градуировочном растворе;

$X_{ср}$ – среднее значение;

$K_{гр}$ - норматив контроля градуировочного графика.

В этом случае градуировка считается достоверной и можно переходить к анализу серии образцов по п. 9.

В противном случае график подлежит повторной перепроверке и, при необходимости, новому проведению градуировки. График подлежит обязательной проверке при замене партии реактивов и посуды, после ремонта оборудования, но не реже 1 раза в месяц.

Нормативы контроля градуировочных графиков МЭ ЖК приведены в таблице 6.

Таблица 6 - Нормативы контроля градуировочных графиков метиловых эфиров жирных кислот

Наименование жирной кислоты	K _{гр} , %	Наименование жирной кислоты	K _{гр} , %
Масляная	29,9	γ-Линоленовая	25,2
Капроновая	19,6	α-Линоленовая	12,4
Каприловая	27,4	Арахидиновая	33,5
Каприновая	28,4	Бегеновая	24,6
Лауриновая	3,8	Лигноцеридовая	31,0
Миристиновая	3,2	Арахидоновая	22,9
Пальмитиновая	11,9	Эйкозапентаеновая	16,0
Стеариновая	7,6	Докозагексаеновая	26,0
Линолевая	7,8		

8.6 Отбор проб

Отбор проб осуществляется согласно ТНПА на анализируемый продукт.

8.7 Подготовка проб

8.7.1 Выделение жира

При анализе жидких продуктов проводят термостатирование пробы при температуре (20±2)°С в течение 30 минут и тщательно перемешивают. При анализе неоднородных продуктов проводят гомогенизацию образца. Сухие сыпучие продукты тщательно перемешивают. Определение жира проводят по указанным ниже ТНПА соответственно типу анализируемого продукта:

- ГОСТ 30648.1-99 «Продукты молочные для детского питания. Методы определения жира»;
- ГОСТ 8756.21-89 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения жира»;
- ГОСТ 26183-84 (СТ СЭВ 4232-83) «Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Методы определения жира».

Содержание жира в продукте (G) выражают в г/100 г.

После определения массовой доли жира, выделенный жир используют для получения метиловых эфиров жирных кислот по п.8.7.2.

8.7.2 Получение метиловых эфиров жирных кислот

Навеску выделенного жира 0,020 – 0,050 г взвешивают с точностью ±0,0001г в пробирке объемом 5 см³ и добавляют 1,9 см³ гексана пипеткой объемом 2 см³. К полученному раствору жира добавляют 0,1 см³ раствора метилата натрия пипеткой объемом 1 см³, пробирку закрывают притертой пробкой и встряхивают в течение 1 минуты. После расслоения фаз (2-5 мин) верхний гексановый слой отделяют и используют для газохроматографического анализа.

9 Выполнение измерений

Проводят измерения пробы, полученной по п.8.7. Условия хроматографирования приведены в п. 8.3. Пробу хроматографируют не менее двух раз. Определение площадей пиков МЭ ЖК на хроматограмме проводят используя систему регистрации, хранения и обработки спектрометрической информации ЮНИХРОМ 97.

В случае если измеренная площадь пика МЭ ЖК больше, чем площадь пика МЭ ЖК, соответствующая верхней точке градуировочного графика, проводят метилирование пробы жира по п.8.7.2 заново. При этом увеличивают объем гексана, в котором была растворена навеска жира, взятая для метилирования. Изменение объема гексана, взятого для растворения навески жира, учитывают в конечном расчете.

10 Обработка результатов измерений

Используя найденное значение площади пика каждого МЭ ЖК находят по градуировочному графику соответствующую ему концентрацию раствора МЭ ЖК - C (мг/см³).

Содержание ЖК в продукте (X) находят по формуле:

$$X = \frac{C \times V \times G}{m} \times F_{MЭ}, \quad (3)$$

где X - содержание ЖК в продукте, мг/100 г;

C - концентрация раствора МЭ ЖК, найденная по градуировочному графику, мг/см³;

V – объем гексана, в котором была растворена взятая для анализа навеска жира, см³;

G – содержание жира в продукте, г/100 г;

m - навеска жира, взятая для анализа, г;

$F_{MЭ}$ – фактор пересчета МЭ ЖК в соответствующие ЖК (равен отношению молекулярной массы жирной кислоты к молекулярной массе ее метилового эфира). Значения F приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Значения фактора пересчета МЭ ЖК в соответствующие ЖК

Наименование жирной кислоты	$F_{MЭ}$	Наименование жирной кислоты	$F_{MЭ}$
Масляная	0,8629	γ -Линоленовая	0,9520
Капроновая	0,8927	α -Линоленовая	0,9520
Каприловая	0,9114	Арахидиновая	0,9570
Каприновая	0,9247	Бегеновая	0,9604
Лауриновая	0,9346	Лигноцеридовая	0,9634
Миристиновая	0,9421	Арахидоновая	0,9530
Пальмитиновая	0,9481	Эйкозапентаеновая	0,9527
Стеариновая	0,9530	Докозагексаеновая	0,9563
Линолевая	0,9524		

Вычисления X проводят с точностью до первого знака после запятой.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение определения содержания ЖК в двух параллельных измерениях:

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (4)$$

где X_1 и X_2 - содержание ЖК в продукте, найденное в первом и втором измерениях соответственно, мг/100 г.

Если величина X_1 или X_2 оказывается меньше предела измерения методики (C_{LOQ}), то вычисления по формуле 4 не проводятся, а дается односторонняя оценка массовой концентрации жирной кислоты в пробе в виде $\bar{X} < (C_{LOQ})$, где (C_{LOQ}) – нижний предел измерения методики (таблица 2):

$$C_{LOQ} = \frac{C_{\min} \times V \times G_{\min}}{m_{\max}} \times F_{MЭ} \quad (5)$$

11 Оформление результатов испытаний

Результаты измерений оформляют по форме, установленной действующей в лаборатории системой регистрации данных.

Результаты должны включать следующую информацию:

- Наименование (шифр) пробы;
- Дату проведения измерений;
- Результаты измерений, включая все необходимые данные и промежуточные расчеты;
- Результаты параллельных определений;
- Окончательный результат измерений;
- Фамилию оператора.

Если величина X_1 или X_2 оказывается меньше предела измерения методики (C_{LOQ}), то дается односторонняя оценка содержания жирной кислоты в пробе, в виде $\bar{X} < (C_{LOQ})$, где (C_{LOQ}) – нижний предел измерения методики (таблица 2).

Гарантированный результат измерений, выдаваемый лабораторией, может быть представлен в виде $(\bar{X} \pm U(X))$, мг/100 г, где \bar{X} - среднее арифметическое из результатов 2-х параллельных измерений, полученное в соответствии с п.9 и рассчитанное согласно п.10; $U(X)$ – абсолютное значение расширенной неопределенности результата измерений \bar{X} , мг/100 г.

$U(X)$ рассчитывается по формуле:

$$U(X) = U \times 0,01 \times \bar{X} \quad (6)$$

Значения U для каждой жирной кислоты приведены в таблице 4.

12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, осуществляют согласно п. 5.2.2.1 СТБ ИСО 5725-6. Два результата испытаний должны быть получены в условиях повторяемости.

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами единичных наблюдений $|X_1 - X_2|$, значение которого сравнивают с абсолютным значением предела повторяемости $r_{абс.}$. Абсолютное значение предела повторяемости $r_{абс.}$, мг/100 г, рассчитывают по формуле:

$$r_{abc} = 0,01 \times r \times \bar{X}, \quad (7)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета из процентов;

\bar{X} – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений, мг/100 г;

r – относительное значение предела повторяемости, %, указанное в таблице 3.

Если для значения абсолютного расхождения между двумя результатами единичных наблюдений выполняется условие:

$$|X_1 - X_2| < r_{abc}, \quad (8)$$

то оба результата считают приемлемыми и в качестве результата измерений указывают среднее арифметическое значение \bar{X} , рассчитанное по формуле (4).

Если абсолютное значение разности превышает значение r , то следует получить еще два результата. Если размах четырех результатов испытаний равен или меньше критического размаха (формула 9), то среднее арифметическое четырех результатов (формула 11) должно указываться как конечный заявляемый результат.

$$|X_{\max} - X_{\min}| \leq CR_{0,95}, \quad (9)$$

где $CR_{0,95} = 3,6 \times \sigma_r$ (10)

Значения σ_r представлены в таблице 3.

$$\bar{X}_{ок} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + X_4}{4} \quad (11)$$

Если данное условие не выполняется, то следует отказаться от полученных данных, выяснить и устранить причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

13 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной воспроизводимости, осуществляют согласно п. 5.3.2.2 СТБ ИСО 5725-6.

После проверки полученных результатов параллельных определений по критерию повторяемости по п.12 рассчитывают среднее арифметическое $\bar{\bar{X}}$ двух результатов измерений \bar{X}_1 и \bar{X}_2 соответственно, мг/100 г:

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2}{2}, \quad (12)$$

где \bar{X}_1 и \bar{X}_2 - средние значения, рассчитанные на основании двух параллельных измерений, вычисленные по формуле (4) в условиях внутрилабораторной воспроизводимости.

Рассчитывают абсолютную разность результатов \bar{X}_1 и \bar{X}_2 , и сравнивают со значением предела внутрилабораторной воспроизводимости CR_{abc} .

$$CR_{abc} = 0,01 \cdot CR_{0,95} \cdot \bar{X} \quad , \quad (13)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$$CR_{0,95} = \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}} \quad , \quad (14)$$

где R и r – относительные значения пределов повторяемости и внутрिलाбораторной воспроизводимости, указанные в таблице 3.

Если для значения абсолютного расхождения между результатами выполняется условие

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| < CR_{abc} \quad , \quad (15)$$

то оба конечных результата, полученные в условиях внутрिलाбораторной воспроизводимости, считаются приемлемыми и среднее значение \bar{X} , рассчитанное по формуле (12), может быть использовано в качестве заявляемого результата.

При превышении указанного норматива должны быть выяснены и устранены причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля внутрिलाбораторной воспроизводимости.

14 Проверка стабильности результатов измерений

Стабильность результатов измерений может быть проверена с использованием контрольной карты Шухарта (R-карта размахов по ИСО 8258) в соответствии с СТБ ИСО 5725-6 п.6.2.2.

При построении контрольной карты используют рабочие пробы стабильные во времени. Содержание жирных кислот в рабочей пробе должно соответствовать диапазону измерений.

Рассчитывают:

- центральную линию: $d_2 \times \sigma_r$,

где $d_2 = 1,128$ (коэффициент для расчета центральной линии для $n=2$);

- границы регулирования: $UCL = D_2 \times \sigma_r$,

где $D_2 = 3,686$ (коэффициент для расчета границы регулирования для $n=2$);

- предупреждающие границы: $UCL = D_2(2) \times \sigma_r$,

где $D_2(2) = 2,834$ (коэффициент для расчета предупреждающих границ для $n=2$);

σ_r – стандартное отклонение повторяемости, % (таблица 3).

Оценку стандартного отклонения повторяемости s_r за отчетный период (20 – 30 измерений) получают по формуле:

$$s_r = \left(\frac{\sum_{i=1}^L w_i}{L} \right) / d_2 = \bar{w} / d_2 \quad , \quad (16)$$

где $w_i = |X_{1i} - X_{2i}|$ - размах;

X_{1i} и X_{2i} – результаты первого и второго определения для i -ой пары, мг/100г;

L – количество пар проведенных измерений за отчетный период (20 - 30 измерений).

Полученные значения заносят в лист данных контрольной карты:

Дата проведения анализа	Наблюдаемые значения		Размах w	Описание
	X_1	X_2		
			Сумма	
			Среднее значение	\bar{w}/d_2

Графически по оси X откладывают дату проведения анализа, по оси Y – размах w . Также отмечают центральную линию и линии предупреждающей и регулирующей границ.

Интерпретацию результатов проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6-2002 п.6.

Методика разработана лабораторией химии пищевых продуктов отдела физико-химических исследований ГУ «РНПЦ гигиены» МЗ РБ.

Разработчики:

Зав. лабораторией ХПП, к.х.н.

Ст.н.с. лаборатории ХПП, к.х.н.

Н.с. лаборатории ХПП

О.В. Шуляковская

Е.В. Вашкевич

О.Н. Тимофеева

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Нормативные ссылки

ГОСТ 15150-69	Машины, приборы и другие технические изделия. Исполнения для различных климатических районов. Категории, условия эксплуатации, хранения и транспортирования в части воздействия климатических факторов внешней среды.
ТКП 183.1-2009	Методические указания по контролю и анализу качества электрической энергии в системах электроснабжения общего назначения. Часть 1. Контроль качества электрической энергии.
ППБ 1.04 – 2002	Инструкции «Основные правила безопасности работы в химических лабораториях». – М.: Химия, 1979 г. ; Общие правила пожарной безопасности Республики Беларусь для общественных зданий и сооружений»
ГОСТ 12.1.004-91	Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.
ГОСТ 12.2.003-91	Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности.
СТБ ИСО 5725-6 -2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике (ISO 5725-6:1994/Соч.1:2001, IDT)
МИ 2335 -2003	Рекомендации «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа» - Екатеринбург, 2003 г.
ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81)	Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(обязательное)

Бюджет неопределенности измерений

Источник неопределенности	Тип оценки	Относительная стандартная неопределенность, %	
Масляная			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	2,8
Определение жира	A	$u_{cЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,6
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	15,8
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	20,6
Расширенная неопределенность (k=2)		U	41
Капроновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	3,4
Определение жира	A	$u_{cЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,7
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	11,6
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	17,7
Расширенная неопределенность (k=2)		U	35
Каприловая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	2,2
Определение жира	A	$u_{cЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,5
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	14,7
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	19,7
Расширенная неопределенность (k=2)		U	39
Каприновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	1,6
Определение жира	A	$u_{cЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,4
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	15,1
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	19,9
Расширенная неопределенность (k=2)		U	39
Лауриновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	1,1
Определение жира	A	$u_{cЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,6
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	1,9
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	13,1
Расширенная неопределенность (k=2)		U	26
Миристиновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	0,6
Определение жира	A	$u_{cЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,6
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	1,7
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	13,0
Расширенная неопределенность (k=2)		U	26

Продолжение таблицы 164

Пальмитиновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_C	2,7
Определение жира	A	$u_{CЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_P	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,2
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{ГХ}$	5,6
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	14,3
Расширенная неопределенность (k=2)		U	29
Стеариновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_C	2,4
Определение жира	A	$u_{CЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_P	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,6
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{ГХ}$	3,6
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	13,6
Расширенная неопределенность (k=2)		U	27
Линолевая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_C	1,9
Определение жира	A	$u_{CЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_P	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,2
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{ГХ}$	3,7
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	13,5
Расширенная неопределенность (k=2)		U	27
Арахидовая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_C	3,5
Определение жира	A	$u_{CЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_P	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,4
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{ГХ}$	17,3
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	21,8
Расширенная неопределенность (k=2)		U	44
γ-линоленовая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_C	2,8
Определение жира	A	$u_{CЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_P	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,2
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{ГХ}$	13,8
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	19,1
Расширенная неопределенность (k=2)		U	38
α-линоленовая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_C	2,5
Определение жира	A	$u_{CЖ}$	12,6
Обработка пробы	B	u_P	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,5
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{ГХ}$	9,2
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	16,0
Расширенная неопределенность (k=2)		U	32

Продолжение таблицы 164

Бегеновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	1,8
Определение жира	A	$u_{cж}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,3
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	13,6
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	18,8
Расширенная неопределенность (k=2)		U	38
Арахидоновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	3,3
Определение жира	A	$u_{cж}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,4
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	12,9
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	18,5
Расширенная неопределенность (k=2)		U	37
Лигноцериновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	3,5
Определение жира	A	$u_{cж}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,5
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	16,2
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	21,0
Расширенная неопределенность (k=2)		U	42
Эйкозапентаеновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	3,5
Определение жира	A	$u_{cж}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,5
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	10,4
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	16,9
Расширенная неопределенность (k=2)		U	34
Докозагексаеновая			
Повторяемость результатов измерений	A	u_c	3,5
Определение жира	A	$u_{cж}$	12,6
Обработка пробы	B	u_p	2,6
Смещение	A	$u(Rec)$	0,5
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{гх}$	14,2
Суммарная стандартная неопределенность ^{*)}		u	19,5
Расширенная неопределенность (k=2)		U	39
*) Суммарная стандартная неопределенность вычисляется по формуле: $u = \sqrt{\sum u_i^2}$			