ГОСТ Р 50207—92
(ИСО 3496—78)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения *L* (—)-оксипролина

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

УДК 637.525.001.4:006.354 Группа Н19

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения *L* (—)-оксипролина

ГОСТ Р 50207—92

(ИСО 3496—78)

Meat and meat products.
Determination of *L* (—)-hydroxyproline content

ОКС 67.120.10
ОКСТУ 9209

Дата введения 1994—01—01

1 Назначение и область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения массовой доли *L* (—)-оксипролина в мясе и мясных продуктах.

2 Ссылка

ГОСТ Р 51447—99 (ИСО 3100-1—91) Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

3 Определение

Массовая доля *L* (—)-оксипролина в мясе и мясных продуктах — массовая доля *L* (—)-оксипролина, определенная в соответствии с методикой, установленной настоящим стандартом, выраженная в процентах к массе продукта.

4 Сущность метода

Гидролиз навески в постоянно кипящем растворе соляной кислоты, содержащем хлорид олова (II). Фильтрация и разбавление гидролизата. Нейтрализация гидроксидом натрия аликвотной части разбавленного гидролизата. Фильтрация и разбавление. Окисление *L* (—)-оксипролина хлорамином-Т с последующим образованием окрашенного в красный цвет соединения *p*-диметиламинобензальдегида. Фотометрическое измерение при длине волны 558 нм.

5 Реактивы

Все реактивы должны быть аналитического качества. Используемая вода должна быть дистиллированной или эквивалентной чистоты.

5.1 Раствор соляной кислоты, содержащий хлорид олова (II)

Растворяют в воде 7,5 г хлорида олова (II) дигидрата ($SnCl_2 \cdot 2H_2O$), разбавляют до 500 см³ и добавляют 500 см³ соляной кислоты (ρ_{20} 1,19 г/см³).

5.2 Соляная кислота, приблизительно 6 моль/дм³ раствор

Смешивают равные объемы соляной кислоты (ρ_{20} 1,19 г/см³) и воды.

5.3 Гидроксид натрия, приблизительно 10 моль/дм³ раствор

Растворяют в воде 40 г гидроксида натрия, охлаждают и разбавляют до 100 см³.

Издание официальное

© Издательство стандартов, 1992
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

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

5.4 Гидроксид натрия, приблизительно 1 моль/дм³ раствор

Растворяют в воде 1 г гидроксида натрия, охлаждают и разбавляют до 100 см³.

5.5 Буферный раствор, pH 6,0

Растворяют в воде:

50 г лимонной кислоты моногидрата ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$);

26,3 г гидроксида натрия;

146,1 г ацетата натрия тригидрата [$Na(CH_3CO_2) \cdot 3H_2O$].

Разбавляют водой до 1000 см³. Смешивают этот раствор с 200 см³ воды и 300 см³ пропанола-1. Этот раствор устойчив в течение нескольких недель при 4 °С.

5.6 Реактив хлорамина-Т

Растворяют в 10 см³ воды 1,41 г *N*-хлор-*p*-толуолсульфамида натрия тригидрата (хлорамин-Т) и последовательно добавляют 10 см³ пропанола-1 и 80 см³ буферного раствора.

Этот раствор готовят непосредственно перед использованием.

5.7 Цветной реактив

10,0 г *p*-диметиламинобензальдегида растворяют в 35 см³ 60 %-ного раствора хлорной кислоты (*m/m*), а затем медленно добавляют 65 см³ пропанола-2.

Этот раствор готовят в день использования.

Примечание — Если необходима очистка *p*-диметиламинобензальдегида (см. примечание к п. 8.5), поступают следующим образом: готовят насыщенный раствор *p*-диметиламинобензальдегида в горячем 70 %-ном этаноле (*V/V*). Охлаждают сначала при комнатной температуре, а затем в холодильнике. Примерно через 12 ч раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Промывают небольшим количеством 70 %-ного этанола (*V/V*). Снова растворяют в горячем 70 %-ном этаноле (*V/V*). Добавляют холодную воду и тщательно перемешивают. Повторяют эту процедуру до тех пор, пока не образуется достаточное количество молочно-белых кристаллов. Оставляют на ночь в холодильнике. Фильтруют раствор на воронке Бюхнера, промывают 50 %-ным этанолом (*V/V*) и высушивают под вакуумом в присутствии оксида фосфора (*V*).

5.8 Стандартные растворы *L* (—)-оксипролина

Готовят основной раствор, растворяя в воде 50 мг 4-оксипирролидин-α-карбоновой кислоты (оксипролин). Добавляют одну каплю раствора соляной кислоты и разбавляют водой до 100 см³. Этот раствор устойчив в течение 1 мес при 4 °С.

В день использования 5 см³ основного раствора разбавляют до 500 см³ водой в мерной колбе. Затем готовят четыре стандартных раствора, разбавляя водой 10, 20, 30 и 40 см³ этого раствора до 100 см³ и получая соответственно концентрации *L* (—)-оксипролина 0,5; 1; 1,5 и 2 мкг/см³.

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура, а также указанная в 6.1—6.10.

6.1 Механическая мясорубка лабораторного типа с решеткой, диаметр отверстий которой не более 4 мм.

6.2 Колба для гидролиза круглодонная или плоскодонная, вместимостью около 200 см³, с широким горлом, оснащенная воздушным или водяным холодильником.

6.3 Электрическое устройство для нагревания (например, калильная сетка для нагревания, электроплитка или электрическая песчаная баня).

6.4 Фильтры из фильтровальной бумаги диаметром 12,5 см.

6.5 pH-метр.

6.6 Алюминиевая или пластиковая фольга.

6.7 Водяная баня с терморегулированием температуры в пределах (60±5) °С.

6.8 Спектрофотометр, обеспечивающий измерение при длине волны (558±2) нм, или фотоэлектроколориметр со светофильтром, имеющим максимум поглощения при длине волны (558±2) нм.

6.9 Кюветы с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

6.10 Аналитические весы.

7 Отбор проб

7.1 Отбирают пробу продукта не менее 200 г.

7.2 Пробу хранят в таких условиях, чтобы предотвратить порчу и изменение состава.

8 Проведение анализа

8.1 Подготовка проб к испытанию

8.1.1 Сырое мясо и мясные продукты

Мясо в охлажденном состоянии (чуть ниже 0 °С) острым ножом нарезают на кубики (приблизительно 0,5 см³, т. е. длина стороны кубика примерно 8 мм).

Пробу помещают в сосуд и герметично закрывают или упаковывают под вакуумом в термостойкую пластиковую пленку; затем нагревают и выдерживают при температуре 70 °С в течение 30 мин; охлаждают и продолжают испытание в соответствии с требованиями п. 8.1.2.

В процессе последующих стадий подготовки пробы и взвешивания навески необходимо обеспечить хорошее перемешивание пробы, особенно равномерное распределение жира и жидкости.

Примечание — Тепловая обработка размягчает соединительную ткань и делает ее менее устойчивой к гомогенизации. Однако это может также привести к отделению жидкости, содержащей желатин. Присутствие жира может также потребовать особого внимания к приготовлению гомогенной пробы для испытания.

8.1.2 Мясо и мясные продукты, готовые к употреблению

Пробу гомогенизируют, пропуская ее дважды через мясорубку и тщательно перемешивая. Хранят гомогенизированную пробу в целиком заполненном воздухонепроницаемом закрытом сосуде в таких условиях, чтобы предотвратить ее порчу и изменение состава. Анализ испытуемой пробы проводят в течение 24 ч.

8.2 Навеска

В колбу для гидролиза взвешивают около 4 г испытуемой пробы с точностью 0,001 г. Навеску берут так, чтобы ни одна частица пробы не прилипла к боковой стенке колбы.

8.3 Гидролиз

8.3.1 В колбу помещают несколько кусочков карбида кремния для равномерного кипения, добавляют (100±1) см³ раствора соляной кислоты, содержащей хлористое олово (II). Колбу соединяют с воздушным или водяным холодильником, нагревают до спокойного кипения на нагревательном устройстве и выдерживают в течение 16 ч (лучше оставить на ночь).

Примечание — По желанию аналитика гидролиз можно проводить последовательно в две стадии, каждая от 7 до 8 ч в течение двух дней. Результаты данного альтернативного метода незначительно отличаются от результатов, полученных при проведении гидролиза в одну стадию в течение 16 ч.

8.3.2 Горячий гидролизат фильтруют через фильтровальную бумагу в мерную колбу с одной отметкой вместимостью 200 см³. Колбу и фильтровальную бумагу промывают три раза, используя каждый раз по 10 см³ горячего раствора соляной кислоты, промывную воду добавляют к гидролизату. Объем доводят водой до метки и перемешивают. Определение проводят не позднее следующего дня после гидролиза.

8.4 Проведение цветной реакции и измерение оптической плотности

8.4.1 В химический стакан пипеткой переносят такой объем гидролизата, чтобы после его разбавления до 250 см³ (см. п. 8.4.2) концентрация *L* (—)-оксипролина была от 0,5 до 2 мкг/см³.

Примечание — В большинстве случаев объем гидролизата от 5 до 25 см³ в зависимости от количества соединительной ткани, содержащейся в пробе.

8.4.2 С помощью pH-метра доводят pH до (8±0,2), добавляя по каплям сначала 10 моль/дм³ раствор гидроксида натрия, а затем 1 моль/дм³ раствор гидроксида натрия. Содержимое стакана фильтруют в мерную колбу с одной отметкой вместимостью 250 см³. Промывают стакан и осадок гидроксида олова на фильтровальной бумаге не менее трех раз водой порциями по 30 см³, собирая промывную жидкость в мерную колбу. Объем доводят до метки и перемешивают.

8.4.3 4,00 см³ этого раствора переносят в пробирку и добавляют 2,00 см³ реактива хлорамина-Т, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на (20±1) мин.

8.4.4 Добавляют 2,00 см³ цветного реактива, тщательно перемешивают и закрывают пробирку алюминиевой или пластиковой фольгой.

8.4.5 Пробирку быстро переносят в водяную баню температурой (60±5) °С и нагревают в течение точно 20 мин.

8.4.6 Охлаждают под струей воды в течение не менее 3 мин.

8.4.7 Оптическую плотность измеряют при длине волны (558±2) нм в кювете на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре со светофильтром.

8.4.8 Вычитают оптическую плотность контрольного раствора и находят концентрацию

L (—)-оксипролина в разбавленном гидролизате по калибровочному графику, построенному, как описано в 8.6.

8.5 Контрольное испытание

Процедуру, описанную в 8.4.3—8.4.8, используя вместо разбавленного гидролизата воду, проводят в двух повторностях.

Примечание — Если оптическая плотность контрольного раствора превышает 0,040, следует приготовить свежий цветной реактив и, при необходимости, провести очистку *p*-диметиламинобензальдегида.

8.6 Калибровочный график

8.6.1 Повторяют всю процедуру определения, описанную в 8.4.3—8.4.8, используя вместо разбавленного гидролизата по очереди 4,00 см^3 каждого из четырех разбавленных стандартных растворов *L* (—)-оксипролина.

8.6.2 Строят чертеж, нанося измеренные значения оптической плотности против соответствующих концентраций стандартных растворов *L*(—)-оксипролина и проводя прямую линию через нанесенные на чертеж точки и начало координат.

Примечание — Для каждой серии анализов необходимо строить калибровочный график.

8.7 Повторность результатов

Повторность проведения анализа двухкратная.

9 Выражение результатов

9.1 Метод расчета и формула

Для каждой из двух навесок массовую долю *L* (—)-оксипролина (*X*) в процентах к массе продукта вычисляют по формуле

$$X = \frac{5\,c}{m\,V},$$

где *c* — концентрация *L* (—)-оксипролина в разбавленном гидролизате, найденная по калибровочному графику, мкг/см^3;

m — масса навески, г;

V — объем гидролизата, используемый для разбавления до 250 см^3, см^3.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений при условии, что это удовлетворяет требованиям 9.2. Результат вычисляют с точностью до 0,01 %.

9.2 Согласование между повторными результатами испытаний

Расхождение между результатами двух параллельных определений, проведенных одним и тем же аналитиком, не должно превышать 5 % по отношению к среднеарифметическому значению.

10 Отчет об испытании

В отчете об испытании должны быть указаны используемый метод и полученные результаты. В нем также должны быть упомянуты любые условия проведения испытаний, не установленные данным стандартом или касающиеся как необязательных, так и любых других подробностей, которые могут повлиять на конечный результат.

Отчет должен включать в себя все подробные данные, необходимые для полной идентификации пробы.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1 ПОДГОТОВЛЕН И ВНЕСЕН Всесоюзным научно-исследовательским и конструкторским институтом мясной промышленности

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 28 августа 1992 г. № 1062

Настоящий стандарт подготовлен методом прямого применения международного стандарта ИСО 3496—78 «Мясо и мясные продукты. Эталонный метод определения содержания *L* (—)-оксипролина» и полностью ему соответствует

3 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

4 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Январь 2010 г.

gost.e-ecolog.ru