ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53641— 2009

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения остаточной активности кислой фосфатазы, выраженной массовой долей фенола в колбасных изделиях из термически обработанных ингредиентов

Издание официальное

БЗ 11—2009/855

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИМП им. В.М. Горбатова» Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 226 «Мясо и мясная продукция»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 декабря 2009 г. № 992-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Сущность метода . . . 2
4 Отбор и подготовка проб . . . 2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы, материалы . . . 2
6 Подготовка к испытанию . . . 3
6.1 Приготовление цитратного буфера . . . 3
6.2 Приготовление реактива Фолина . . . 3
6.3 Приготовление основного раствора . . . 3
6.4 Построение градуировочного графика . . . 3
6.5 Приготовление испытуемого раствора . . . 4
7 Проведение измерений . . . 4
8 Обработка результатов измерений . . . 4
9 Метрологические характеристики . . . 5
9.1 Диапазон измерения . . . 5
9.2 Прецизионность метода . . . 5
10 Требования безопасности . . . 5
Приложение А (рекомендуемое) Градуировочный график для определения массовой доли фенола . . 6

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения остаточной активности кислой фосфатазы, выраженной массовой долей фенола в колбасных изделиях из термически обработанных ингредиентов

Meat and meat products. Method for determination of residual activity of acid phosphatase, expressed by mass fraction of phenol in sausage products made from thermally treated ingredients

Дата введения — 2011—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясные продукты — вареные колбасные изделия из термически обработанных ингредиентов (ливерные колбасы и паштеты с использованием субпродуктов) и устанавливает фотометрический метод определения остаточной активности кислой фосфатазы.

Диапазон измерения массовой доли остаточной активности кислой фосфатазы от 0 % до 0,012 % фенола.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

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

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

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

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

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

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3652—69 Реактивы. Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия

ГОСТ 4025—95 Мясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 4109—79 Реактивы. Бром. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5789—78 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 6552—80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

Издание официальное

ГОСТ 10931—74 Реактивы. Натрий молибденовокислый 2-водный. Технические условия
ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
ГОСТ 18289—78 Реактивы. Натрий вольфрамовокислый 2-водный. Технические условия
ГОСТ 20469—95 Электромясорубки бытовые. Технические условия
ГОСТ 20469—95 Электромясорубки бытовые. Технические условия
ГОСТ 20903—75 Кюветы прямоугольные кварцевые для спектрофотометров. Основные размеры. Технические требования
ГОСТ 22280—76 Реактивы. Натрий лимоннокислый 5,5-водный. Технические условия
ГОСТ 23519—93 Фенол синтетический технический. Технические условия
ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Метод основан на фотометрическом измерении интенсивности окраски продукта, зависящей от величины остаточной активности кислой фосфатазы, выраженной массовой долей фенола, в процентах.

4 Отбор и подготовка проб

4.1 Отбор проб — по ГОСТ Р 51447, ГОСТ 9792.

4.2 Дополнительно анализируемую пробу освобождают от оболочки, измельчают, дважды пропуская через мясорубку, и тщательно перемешивают. Затем пробу помещают в стеклянную или пластмассовую емкость вместимостью 200—400 $см^3$, заполняя ее полностью, и закрывают крышкой.

Пробу хранят при температуре (4 ± 2) °С до окончания испытаний.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы, материалы

Спектрофотометр, обеспечивающий измерение при длине волны (600 ± 10) нм, или фотоэлектрический калориметр со светофильтром, имеющим максимум поглощения при длине волны (600 ± 10) нм.

pH-метр лабораторный, позволяющий проводить измерения с допускаемой погрешностью ± 0,05 единицы pH.

Кюветы стеклянные по ГОСТ 20903—75 с расстоянием между рабочими гранями 10 мм.

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025 или электромясорубка бытовая по ГОСТ 20469 с отверстиями решетки диаметром от 3 до 4 мм.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,0001г.

Ультратермостат или водяная баня, обеспечивающие регулирование температуры от 30 °С до 100 °С.

Воронки В-36-80 ХС, В-56-80 ХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 2-500-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770, откалиброванные на наливной объем.

Холодильник ХШ-1-400-29/32 ХС по ГОСТ 25336.

Колба К-1-2000-29/32 ТХС по ГОСТ 25336.

Пипетки 4-2-1, 4-2-2, 7-2-5, 7-2-10 по ГОСТ 29169.

Пробирки П1-16-150 ХС, П1-21-200 ХС, П1-25-200 ХС по ГОСТ 25336.

Палочки стеклянные.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Груша резиновая.

Кислота лимонная по ГОСТ 3652, х.ч.

Натрий лимоннокислый 5,5-водный по ГОСТ 22280, ч.д.а.

Фенилфосфорной кислоты динатриевая соль, ч, свежеприготовленный раствор массовой концентрации 2 г/дм^3.

Кислота трихлоруксусная кристаллическая, ч, растворы массовой концентрации 50 и 200 г/дм^3.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х.ч., раствор молярной концентрации 0,5 моль/дм^3.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Фенол по ГОСТ 23519 марки А.

Толуол по ГОСТ 5789, ч.д.а.

Натрий вольфрамовокислый 2-водный по ГОСТ 18289, х.ч.

Натрий молибденовокислый по ГОСТ 10931, ч.д.а.

Литий сернокислый 1-водный с массовой долей основного вещества не менее 97 %.

Кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552, х.ч., плотностью 1,72 г/см^3.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч., плотностью 1,19 г/см^3.

Бром по ГОСТ 4109, х.ч.

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

6 Подготовка к испытанию

6.1 Приготовление цитратного буфера

В мерной колбе вместимостью 1000 см^3 в дистиллированной воде растворяют 13,88 ± 0,005 г лимоннокислого натрия и 0,588 ± 0,0005 г лимонной кислоты, доливают дистиллированной водой до метки и перемешивают. pH буфера 6,5. Затем добавляют 1 см^3 толуола. Срок хранения раствора в холодильнике при температуре (4 ± 1) °С — не более 12 сут.

6.2 Приготовление реактива Фолина

100 г вольфрамовокислого натрия и 25 г молибденовокислого натрия растворяют в 700 см^3 дистиллированной воды. К раствору добавляют 50 см^3 ортофосфорной кислоты и 100 см^3 соляной кислоты. Смесь осторожно кипятят в течение 10 ч в колбе вместимостью 2000 см^3 с обратным холодильником, после чего охлаждают при комнатной температуре. Затем добавляют 150 г сернокислого лития, 50 см^3 дистиллированной воды и несколько капель брома. Остаток брома отгоняют кипячением смеси в вытяжном шкафу, охлаждают, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют. Приготовленный реактив Фолина должен быть золотисто-желтого цвета без зеленого оттенка. Срок хранения реактива Фолина в склянке с притертой пробкой в темном месте — не более 6 мес.

Допускается применение готового реактива Фолина.*

6.3 Приготовление основного раствора

На лабораторных весах взвешивают 2,0 г фенола с записью результата до третьего знака после запятой, растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки и перемешивают. Отбирают пипеткой с помощью резиновой груши 5 см^3 раствора в колбу вместимостью 500 см^3, добавляют около 300 см^3 дистиллированной воды, вносят 25 г кристаллической трихлоруксусной кислоты. После растворения содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Полученный основной раствор содержит 20 мкг фенола в 1 см^3.

6.4 Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика готовят три основных раствора.

6.4.1 Приготовление градуировочных растворов

Из каждого основного раствора готовят шесть градуировочных растворов. Для этого в соответствии с таблицей 1 в пробирки вместимостью 25 см^3 вносят основной раствор фенола и доводят объем в каждой пробирке до 2,5 см^3, добавляя соответствующий объем раствора трихлоруксусной кислоты массовой концентрации 50 г/дм^3.

* 1,2-Naphthoquinone-4-sulfonic acid sodium salt, фирма «Fluka», номер по каталогу — 47641.

Таблица 1

Номер пробирки	Объем основного раствора, $см^3$	Объем раствора трихлоруксусной кислоты массовой концентрации 50 $г/дм^3$	Массовая концентрация фенола в стандартном растворе, мкг
№ 1	0	2,5	0
№ 2	0,25	2,25	5
№ 3	0,5	2,0	10
№ 4	1,0	1,5	20
№ 5	1,5	1,0	30
№ 6	2,0	0,5	40

6.4.2 В каждую пробирку добавляют 5 $см^3$ раствора гидроокиси натрия молярной концентрации 0,5 моль/$дм^3$, перемешивают, выдерживают 10 мин, добавляют 1,5 $см^3$ реактива Фолина, разведенного дистиллированной водой в соотношении 1:2, и снова перемешивают.

Через 30 мин в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм измеряют оптическую плотность растворов по отношению к контрольному раствору (пробирка № 1) при длине волны (600 ± 10) нм.

6.4.3 По полученным средним данным из трех основных растворов строят градуировочный график. Пример построения градуировочного графика для определения массовой доли фенола приведен в приложении А.

6.5 Приготовление испытуемого раствора

Из подготовленной к испытанию пробы берут две навески массой по 1 г (результат взвешивания записывают до третьего десятичного знака) и переносят в две пробирки — опытную и контрольную.

В пробирки вносят по 10 $см^3$ цитратного буфера pH 6,5, тщательно перемешивают стеклянной палочкой и настаивают в течение 20 мин при комнатной температуре, периодически перемешивая.

В контрольную пробирку добавляют 5 $см^3$ раствора трихлоруксусной кислоты массовой концентрации 200 $г/дм^3$, перемешивают и добавляют 5 $см^3$ раствора динатриевой соли фенилфосфорной кислоты массовой концентрации 2 $г/дм^3$, выдерживают 10 мин и фильтруют.

В опытную пробирку добавляют 5 $см^3$ раствора динатриевой соли фенилфосфорной кислоты массовой концентрации 2 $г/дм^3$ и помещают в ультратермостат при температуре (39 ± 1) °С на 1 ч, затем добавляют 5 $см^3$ раствора трихлоруксусной кислоты массовой концентрации 200 $г/дм^3$, выдерживают 10 мин и фильтруют.

7 Проведение измерений

7.1 Для проведения цветной реакции из контрольной и опытной пробирок отбирают по 2,5 $см^3$ безбелкового фильтрата. Цветную реакцию проводят по 6.4.2.

7.2 По градуировочному графику определяют массовую долю фенола в пробирках.

8 Обработка результатов измерений

8.1 Массовую долю фенола, X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C \cdot 20}{m \cdot 2{,}5 \cdot 10^6} 100, \qquad (1)$$

где C — масса фенола, найденная по градуировочному графику, соответствующая оптической плотности, найденной по разности плотностей в опытной и контрольной пробирках ($D_1 - D_2$), мкг;

20 — разведение навески, $см^3$;

m — масса анализируемой пробы, г;

2,5 — объем фильтрата, отобранный для цветной реакции, $см^3$;

10^6 — коэффициент пересчета в г;

D_1 — оптическая плотность раствора в опытной пробирке;

D_2 — оптическая плотность раствора в контрольной пробирке.

Вычисление проводят до четвертого знака после запятой.

8.2 За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение двух параллельных измерений, полученных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости

$$(X_1 - X_2) \le r, \quad (2)$$

где X_1 и X_2 — результаты двух параллельных измерений, %;

r — значение предела повторяемости, %.

В случае, если абсолютное расхождение между результатами двух измерений превышает предел повторяемости (сходимости) r, проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, проводят в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6, п. 5.2.2. За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение повторных параллельных измерений, имеющих расхождение в допустимых пределах. Окончательный результат округляют до третьего десятичного знака.

8.3 Результаты измерения представляют в виде

$$(X_{ср} \pm \Delta) \text{ при } P = 0{,}95, \quad (3)$$

где $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение двух параллельных определений, признанных приемлемыми, %;

Δ — граница абсолютной погрешности измерения при $P = 0{,}95$.

9 Метрологические характеристики

9.1 Диапазон измерения

Диапазон измерения массовой доли остаточной активности кислой фосфатазы от 0 % до 0,012 % фенола.

9.2 Прецизионность метода

Показатели прецизионности метода определены в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-2.

9.2.1 Границы абсолютной погрешности результатов измерения, %, при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ вычисляют по формуле

$$\Delta = \pm (0{,}04\, X_{ср} + 0{,}0024), \quad (4)$$

где $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение двух параллельных измерений, признанных приемлемыми, %.

9.2.2 Предел повторяемости r, %, при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ вычисляют по формуле

$$r = 0{,}00054\, X_{ср} + 0{,}0012. \quad (5)$$

Расхождение между результатами двух измерений, полученными на идентичной испытуемой пробе, одним оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах кратчайшего из возможных интервалов времени, будет превышать предел повторяемости r в среднем не более одного раза из двадцати случаев при правильном использовании метода.

9.2.3 Абсолютное расхождение между результатами двух единичных измерений, полученными одним и тем же методом на идентичной испытуемой пробе, в разных лабораториях, разными операторами, с использованием разного оборудования, будут различаться с превышением предела воспроизводимости R, %, в среднем не более одного раза из двадцати случаев, который вычисляют по формуле

$$R = 0{,}00098\, X_{ср} + 0{,}00305, \quad (6)$$

где $X_{ср}$ — среднее арифметическое значение результатов двух измерений, %.

10 Требования безопасности

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

10.2 Помещение, в котором проводятся измерения, должно быть снабжено приточно-вытяжной вентиляцией. Работу необходимо проводить, соблюдая правила личной гигиены и противопожарной безопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.004, и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

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

Приложение А
(рекомендуемое)

Градуировочный график для определения массовой доли фенола

А.1 График для определения массовой доли фенола приведен на рисунке А.1.



Рисунок А.1

УДК 637.5.07:006.054 Н19 ОКС 67.120.10

Ключевые слова: мясо и мясные продукты, колбасные изделия, ливерные колбасы, паштеты, остаточная активность кислой фосфатазы, массовая доля фенола

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Т.И. Кононенко*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 16.03.2010. Подписано в печать 06.04.2010. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал
Печать офсетная Усл. печ. л. 1,40 Уч.-изд. л. 0,80 Тираж 341 экз. Зак. 277.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru