МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 31477— 2012

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Иммунопреципитационный метод определения массовой доли животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом мясной промышленности имени В.М. Горбатова Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 23—24 мая 2012 г. № 41)

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
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 октября 2012 г. № 488-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе ГОСТ Р 53514—2009*

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2019 г.

* Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 октября 2012 г. № 488-ст национальный стандарт ГОСТ Р 53514—2009 отменен с 1 июля 2013 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2012, 2019

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Сущность метода 2
4 Диапазоны измерений и метрологические характеристики метода 2
5 Отбор проб 2
6 Средства измерений, оборудование, материалы и реактивы 2
7 Подготовка к выполнению измерений 3
8 Проведение измерений 3
9 Обработка результатов 4
10 Требования безопасности 5
Библиография 6

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

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Иммунопреципитационный метод определения массовой доли животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка

Meat and meat products. Immune method of determination of animal (pork, beef, mutton) proteins

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо и мясные полуфабрикаты и устанавливает иммунопреципитационный метод определения массовой доли животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка.

Стандарт предназначен для идентификации свиного, говяжьего или бараньего белка в составе мясного сырья и мясных продуктов, не подвергнутых тепловой обработке.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

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

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

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

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

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9656 Реактивы. Кислота борная. Технические условия

ГОСТ 10652 Реактивы. Соль динатриевая этилендиамин-N, N, N', N'-тетрауксусной кислоты 2-водная (трилон Б). Технические условия

ГОСТ 20903 Кюветы прямоугольные кварцевые для спектрофотометров. Основные размеры. Технические требования

ГОСТ 25011 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка

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

ГОСТ 26678 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (www.easc.by) или по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по

Издание официальное

стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Метод основан на проявлении особых свойств защитных систем высших позвоночных — вырабатывать новые сывороточные белки (антитела) при введении в организм посторонних для него веществ (антигенов). Используют диагностическую преципитирующую сыворотку к конкретному виду животного белка, вызывающую образование нерастворимого комплекса антиген-антитело.

4 Диапазоны измерений и метрологические характеристики метода

4.1 Диапазон измерений массовой доли животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка от 1 % до 85 %.

4.2 Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности 0,95 приведены в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой доли, %	Границы относительной погрешности, ± δ, %	Предел повторяемости, $r_{отн.}$, %	Предел воспроизводимости, $R_{отн.}$, %
Массовая доля животного белка, %	От 1 до 85 включ.	30	24	38

5 Отбор проб

5.1 Отбор проб — по [1].

5.2 Пробу хранят в холодильнике при температуре от 0 °С до 5 °С до полного завершения испытания в течение суток.

Допускается хранение проб при температуре от минус 20 °С до минус 10 °С в герметичной упаковке в течение одной недели с даты отбора проб на исследование.

6 Средства измерений, оборудование, материалы и реактивы

Спектрофотометр типа «Аквилон»*, обеспечивающий измерения в диапазоне длин волн от 200 до 900 нм.

Кюветы кварцевые толщиной 1 см по ГОСТ 20903.

Весы лабораторные с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,1 мг.

Микроизмельчитель тканей или гомогенизатор с частотой вращения 8000—24000 об/мин.

Центрифуга с регулируемой скоростью вращения до 8000 об/мин.

Пробирки центрифужные по ГОСТ 25336.

Аппарат встряхивающий.

Холодильник бытовой по ГОСТ 26678.

Дозатор пипеточный переменного объема.

Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Воронки стеклянные ВД-1-100 ХС по ГОСТ 25336.

Диагностическая сыворотка.

* Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

Свинина, говядина, баранина с массовой долей белка по Кьельдалю не менее 18 % для использования в качестве контрольного образца.

Соевый изолят с массовой долей белка по Кьельдалю не менее 85 %.

Кислота борная по ГОСТ 9656, ч.

2-амино-2(гидроксиметил)-1,3-пропандиол (ТРИС) с массовой долей основного вещества 99,9 %.

Соль динатриевая этилендиамин-N, N, N', N'-тетрауксусной кислоты (трилон Б) по ГОСТ 10652, ч. д. а.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

7 Подготовка к выполнению измерений

7.1 Приготовление растворов

7.1.1 Приготовление концентрированного буферного раствора

Навеску 2-амино-2(гидроксиметил)-1,3-пропандиола (ТРИС) массой 15,0 г и навеску трилона Б массой 1,5 г с помощью воронки переносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$ и при перемешивании добавляют 100—150 $см^3$ дистиллированной воды. Полученный раствор перемешивают, в него добавляют постепенно 5,5 г борной кислоты и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Раствор тщательно перемешивают до растворения осадка.

7.1.2 Приготовление рабочего буферного раствора

В мерную колбу вместимостью 250 $см^3$ с помощью мерного цилиндра вносят 50 $см^3$ концентрированного буферного раствора. Раствор в колбе доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают и получают рабочий буферный раствор, содержащий в 1 $см^3$ 0,012 г ТРИС, 0,001 г трилона Б и 0,0044 г борной кислоты.

7.2 Приготовление испытуемого экстракта пробы

7.2.1 Навеску пробы массой 5,0 г перемешивают с 5 $см^3$ рабочего буферного раствора в гомогенизаторе в течение 5 мин и выдерживают смесь 1 ч при температуре от 5 °С до 8 °С, периодически встряхивая в течение 5 мин.

7.2.2 Смесь центрифугируют при 5000 об/мин в течение 20 мин. Для измерений используют верхний прозрачный слой, содержащий экстракт анализируемого белка.

7.3 Приготовление двухкомпонентных модельных мясорастительных смесей для построения градуировочного графика

Навески по 25,0 г свинины (говядины или баранины) смешивают с навесками 400,0 г и 100,0 г соевого изолята и навески по 100,0 г свинины (говядины или баранины) смешивают с навесками 100, 30, 15 и 3,5 г соевого изолята.

Каждую смесь перемешивают на микроизмельчителе тканей в течение 30 мин до образования гомогенной массы. Допускается использование уменьшенных навесок в случае приготовления смеси путем растирания в ступке. Получают двухкомпонентные модельные мясорастительные смеси, массовая доля животного (свиного, говяжьего, бараньего) белка в которых относительно массовой доли общего белка равна 1,3 %; 5,0 %; 17,5 %; 41,4 %; 58,5 % и 86,1 %.

Предварительно определяют массовую долю общего белка методом Кьельдаля по ГОСТ 25011.

8 Проведение измерений

8.1 Измерение испытуемых растворов

8.1.1 20 $мм^3$ экстракта пробы смешивают с 400 $мм^3$ рабочего буферного раствора, измеряют фоновое поглощение на спектрофотометре при λ = 405 нм (контроль), затем добавляют 20 $мм^3$ диагностической сыворотки, содержащей антитела, к определяемому виду белка, проводят реакцию осаждения при постоянном встряхивании смеси в течение 1 ч. Для выявления специфического белка измеряют оптическую плотность среды в кювете с толщиной оптического слоя 1 см.

8.1.2 Для подтверждения действия диагностической преципитирующей сыворотки на животный белок параллельно проводят анализ контрольного образца, не содержащего определяемый белок.

8.1.3 Для каждого испытуемого раствора проводят два измерения, по результатам которых с помощью градуировочного графика находят средние значения массовой концентрации животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка в этих растворах.

8.2 Построение градуировочного графика

Градуировочный график строят по результатам двукратного определения в соответствии с 8.1.1 массовой доли животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка в двухкомпонентных модельных мясорастительных смесях, содержащих животный белок и добавки растительного соевого белка, соответственно в таблицах 2—4.

Таблица 2

Оптическая плотность среды (D_{405}) при 405 нм	0,070	0,075	0,100	0,158	0,200	0,260
Массовая доля свиного белка в образце C, % от общего белка	1,3	5,0	17,5	41,4	58,5	86,1

Таблица 3

Оптическая плотность среды (D_{405}) при 405 нм	0,065	0,085	0,110	0,135	0,155	0,175	0,200	0,225	0,250	0,275
Массовая доля говяжьего белка в образце C, % от общего белка	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90

Таблица 4

Оптическая плотность среды (D_{405}) при 405 нм	0,060	0,090	0,115	0,130	0,160	0,170	0,190	0,230	0,260	0,280
Массовая доля бараньего белка в образце C, % от общего белка	11	110	220	330	440	550	660	770	880	990

9 Обработка результатов

9.1 Массовую долю животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка $Б_ж$, %, относительно массовой доли общего белка, вычисляют по формуле

$$Б_ж = \frac{C}{Б_к}100, \quad (1)$$

где C — среднеарифметическое значение массовой доли животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка в испытуемой пробе, %;

$Б_к$ — массовая доля общего белка в анализируемом образце, определенная методом Кьельдаля, %.

9.2 За окончательный результат измерения принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

$$[(2 \mid C_1 - C_2 \mid)/(C_1 + C_2)] \cdot 100 \le r_{отн}, \quad (2)$$

где C_1 и C_2 — результаты параллельных определений массовой доли животного (свиного, говяжьего, бараньего) белка, определенные по градуировочному графику, %;

$r_{отн}$ — предел повторяемости, приведенный в таблице 1.

Результат вычислений округляют до целого числа.

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 проводят 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.

Библиография

[1] ИСО 17604:2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Отбор проб с туши для микробиологического анализа

УДК 637.5.045:633.34:537.3:006.354 МКС 67.120.10

Ключевые слова: стандарт, мясо, мясные продукты, иммунопреципитационный метод, животный белок, свиной белок, говяжий белок, бараний белок, соевый изолят, преципитирующая сыворотка, диагностическая сыворотка

Редактор *Ю.А. Расторгуева*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 19.11.2019. Подписано в печать 29.11.2019 Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,70.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru