ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54465— 2011 (ИСО 5553:1980)

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Обнаружение полифосфатов

ISO 5553:1980
Meat and meat products — Detection of polyphosphates (MOD)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

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 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИМП им В.М. Горбатова Россельхозакадемии») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 4

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 11 октября 2011 г. № 439-ст

4 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту ИСО 5553:1980 «Мясо и мясные продукты. Обнаружение полифосфатов» (ISO 5553:1980 «Meat and meat products — Detection of polyphosphates») путем изменения структуры, содержания отдельных структурных элементов, слов, фраз, ссылок для учета особенностей национальной экономики и национальной стандартизации Российской Федерации, выделенных в тексте курсивом.

Сравнение структуры настоящего стандарта со структурой указанного международного стандарта приведено в дополнительном приложении ДА

5 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, 2013

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 *Реактивы* 2
5 Аппаратура, материалы 3
6 *Отбор проб* 3
7 Порядок проведения анализа 3
8 Обработка результатов 4
9 Требования безопасности 5
Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного стандарта 6

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Обнаружение полифосфатов

Meat and meat products.
Detection of polyphosphates

Дата введения — 2013–07–01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод выявления линейных конденсированных фосфатов (солей фосфорной кислоты, имеющих линейное строение фосфат-анионов) в мясе и мясных продуктах посредством разделения тонкослойной хроматографией.

Поскольку полифосфаты постепенно гидролизуются ферментами, содержащимися в мясе или мясном продукте, а также при тепловой обработке, настоящий стандарт применяется только для обнаружения вносимых полифосфатов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

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

ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) Вода для лабораторного анализа. Технические условия

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

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

ГОСТ 245—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия

ГОСТ 342—77 Реактивы. Натрий дифосфат 10-водный. Технические условия

ГОСТ 3760—79 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 3765—78 Реактивы. Аммоний молибденовокислый. Технические условия

ГОСТ 4025—95 Мясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 4461—77 Реактивы. Кислота азотная. Технические условия

ГОСТ 5817—77 Реактивы. Кислота винная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

ГОСТ 10163—76 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 20469—95 Электромясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

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 заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяют в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 *Сущность метода*

Метод основан на экстракции мяса или мясного продукта трихлоруксусной кислотой, очистке полученного экстракта смесью этилового спирта и диэтилового эфира с последующим разделением фосфатов методом тонкослойной хроматографии и качественной идентификацией полифосфатов распылением реагентами для проявления цвета.

4 *Реактивы*

Все реактивы должны быть аналитического качества (не ниже х. ч.).

Вода, используемая для приготовления растворов химических реагентов и подготовки проб, должна быть дистиллированной или эквивалентной чистоты.

4.1 Кислота трихлоруксусная.

4.2 Эфир диэтиловый.

4.3 Спирт этиловый технический *по ГОСТ 18300*, 95 % -ный (по объему).

4.4 Целлюлоза порошкообразная для тонкослойной хроматографии.

4.5 Крахмал растворимый *по ГОСТ 10163*.

4.6 Контрольный раствор

В 100 см³ дистиллированной воды растворяют 200 мг фосфорнокислого натрия однозамещенного водного ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$), 300 мг пирофосфата натрия 10-водного ($Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$), 200 мг трифосфата натрия 5-замещенного ($Na_5P_3O_{10}$) и 200 мг гексаметафосфата натрия $(NaPO_3)_x$ [x > 10].

Контрольный раствор устойчив при температуре 4 °С не менее четырех недель.

4.7 *Элюент*

Смешивают 140 см³ изопропилового спирта, 40 см³ раствора трихлоруксусной кислоты концентрации 135 г/дм³ и 0,6 см³ раствора гидроокиси аммония с массовой долей 25 % и плотности ρ_{20} = 0,90 г/см³.

Раствор хранят в плотно закрытой бутыли *при комнатной температуре не более 2 мес.*

4.8 Реагент для *распыления* I

Смешивают равные объемы по 75 г/дм³ раствора молибдата аммония 4-водного $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$ и концентрированной азотной кислоты (ρ_{20} = 1,40 г/см³). 10 г винной кислоты растворяют в 100 см³ полученной смеси.

Реагент готовят в день использования.

4.9 Реагент для *распыления* II

Смешивают 195 см³ раствора пиросульфита натрия (метабисульфит натрия; $Na_2S_2O_5$) массовой концентрации 150 г/дм³ и 5 см³ раствора сульфита натрия (Na_2SO_3) массовой концентрации 200 г/дм³. В этой смеси сначала растворяют 0,5 г 1-амино-2-нафтол-4-сульфоновой кислоты, а затем 40 г ацетата натрия 3-водного ($NaOOCCH_3 \cdot 3H_2O$).

Раствор хранят в плотно закрытой посуде из темного стекла в холодильнике *при температуре не выше (8 ± 2)° С не более* одной недели.

4.10 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода для лабораторного анализа по ГОСТ Р 52501, не ниже 3-й степени чистоты.

4.11 Натрий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 245.

4.12 Натрия пирофосфат 10-водный по ГОСТ 342.

4.13 Аммония гидроокись по ГОСТ 3760.

4.14 Аммоний молибденовокислый по ГОСТ 3765.

4.15 Кислота азотная концентрированная по ГОСТ 4461.

4.16 Кислота винная по ГОСТ 5817.

Примечание — В раздел 4 введены дополнения для учета особенностей национальной экономики в Российской Федерации.

5 *Аппаратура, материалы*

Используют обычное лабораторное оборудование, а также указанное в 5.1—5.12.

5.1 Пластинки стеклянные размером 10 см × 20 см обезжиренные.

5.2 Приспособление для нанесения слоя сорбента толщиной 0,25 мм.

Допускается использовать готовые для употребления тонкослойные пластинки с толщиной слоя 0,25 мм.

Не используют пластинки, содержащие гипс (сульфат кальция).

5.3 Миксер лабораторный.

5.4 Шкаф сушильный, *способный поддерживать температуру (103 ± 2) °С.*

5.5 Мясорубка *по ГОСТ 4025 или электромясорубка по ГОСТ 20469* с решеткой, диаметр отверстий которой не более 4 мм.

5.6 Фильтры бумажные складчатые с размером диаметра 15 см *из фильтровальной бумаги по ГОСТ 12026.*

5.7 Микропипетка вместимостью 0,001 $см^3$ или микрошприц с микрометрическим винтом и загнутым стеклянным кончиком.

5.8 Камера стеклянная, выстланная бумагой соответствующих размеров с плотно прилегающей крышкой для проявления тонкослойных хроматограмм.

5.9 Тепловентилятор, способный создавать поток воздуха комнатной температуры или теплый *(погрешность ± 2 °С).*

5.10 Пульверизатор.

5.11 Плитка электрическая по ГОСТ 14919.

5.12 Весы по ГОСТ Р 53228 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,1 мг.

5.13 Эксикатор 2-140 или 2-190 по ГОСТ 25336.

Примечание — В раздел 5 введены дополнения для учета особенностей национальной экономики в Российской Федерации.

6 Отбор проб

6.1 Отбор проб — по *ГОСТ Р 51447, ГОСТ 9792.*

От представительной пробы отбирают пробу массой не менее 200 г.

6.2 Пробу готовят в день ее поступления в лабораторию.

7 *Порядок проведения анализа*

7.1 Подготовка тонкослойных пластин

0,3 г крахмала растворяют в 90 $см^3$ кипящей воды. Охлаждают, добавляют 15 г порошкообразной целлюлозы и гомогенизируют в лабораторном миксере в течение 1 мин. Наносят эту смесь на стеклянные пластинки с помощью приспособления для нанесения сорбента или шпателя, так чтобы получился слой толщиной 0,25 мм. Пластинки высушивают при комнатной температуре до полного высыхания, но не менее 60 мин. Затем пластинки нагревают в течение 10 мин при температуре 100 °С.

Хранят пластинки в эксикаторе.

Допускается использование готовых тонкослойных пластин.

7.2 Подготовка проб

Пробу измельчают, дважды пропуская через мясорубку, и тщательно перемешивают.

После измельчения подготовленную пробу хранят в герметически закрытом сосуде в холодильнике *не более 24 ч.*

7.3 Приготовление экстракта

7.3.1 50 г подготовленной пробы перемешивают с 15 см^3 дистиллированной воды в химическом стакане при температуре от 40 °С до 60 °С лопаткой или плоским стержнем для перемешивания до получения гомогенной массы, но не более 5 мин.

7.3.2 К полученной массе добавляют 10 г трихлоруксусной кислоты и снова тщательно перемешивают.

7.3.3 Раствор сразу же помещают на 1 ч в холодильник для отстаивания. Затем отделившуюся жидкость отфильтровывают через складчатый бумажный фильтр.

7.3.4 Если фильтрат мутный, его встряхивают один раз с равным объемом диэтилового эфира. Затем из фильтрата пипеткой удаляют слой эфира и добавляют равное количество этилового спирта к водной фазе фильтрата. Фильтрат встряхивают в течение 1 мин. Дают жидкости отстояться в течение нескольких минут и фильтруют через складчатый бумажный фильтр.

7.4 Хроматографическое разделение

7.4.1 *Элюент* заливают в стеклянную хроматографическую камеру для проявления на глубину от 5 до 10 мм и закрывают камеру крышкой. Отстаивают в течение 30 мин при комнатной температуре в темном прохладном месте.

7.4.2 0,003 см^3 экстракта (или 0,006 см^3 экстракта, если была проведена очистка фильтрата по 7.3.4) наносят на линию старта по карандашной линии, проведенной на расстоянии около 2 см от края пластины. Экстракт наносят по 0,001 см^3 так, чтобы пятнышки были небольшими.

После нанесения экстракта пластины просушивают потоком теплого воздуха с помощью тепловентилятора.

Примечание — Следует избегать струи горячего воздуха в связи с опасностью гидролиза фосфатов.

7.4.3 Таким же образом, точно на таком же расстоянии от дна хроматографической камеры наносят 0,003 см^3 контрольного раствора на пластинку на расстоянии от 1 до 1,5 см от пятнышка пробы.

7.4.4 Затем снимают крышку хроматографической камеры для элюирования, в нее быстро, но аккуратно помещают пластинку с целлюлозой, крышку закрывают. Разделение проводят при комнатной температуре в темноте.

7.4.5 Проявление продолжают до тех пор, пока фронт растворителя не поднимется приблизительно на 10 см от карандашной линии. Вынимают пластину из камеры и сушат в течение 10 мин в сушильном шкафу при температуре 60 °С или в течение 30 мин при комнатной температуре или в потоке холодного воздуха.

7.5 Обнаружение фосфатов

7.5.1 Пластинку помещают вертикально под вытяжным шкафом и равномерно распыляют реагентом I. Сразу появляются желтые пятна.

7.5.2 Пластинку высушивают в потоке теплого воздуха с помощью тепловентилятора, затем выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100 °С в течение 1 ч для удаления следов азотной кислоты. Вынимают пластинку из сушильного шкафа и проверяют отсутствие едкого запаха азотной кислоты.

7.5.3 Пластинку охлаждают до комнатной температуры, затем снова помещают под вытяжной шкаф и равномерно распыляют реагентом II. Сразу появляются голубые пятна.

Примечание — Распыление реагентом II можно не проводить. Однако интенсивно окрашенные голубые пятна, образованные этим реагентом, значительно улучшают обнаружение полифосфатов.

8 *Обработка результатов*

8.1 Сравнивают расстояния миграции пятен фосфата от анализируемой пробы с расстояниями миграции пятен от контрольного раствора.

В анализируемых пробах всегда на тонкослойной пластине присутствует пятно ортофосфата. Если проба содержит конденсированные фосфаты, на пластинке становятся видимы пятно дифосфата и/или пятна более высокополимеризованных фосфатов.

Значения R_F *(фактор удерживания)* для орто- и полифосфатов в контрольной смеси составляют:

- ортофосфата . . . . . от 0,80 до 0,90;
- дифосфата (пирофосфата) . . . . . от 0, 50 до 0,60;
- трифосфата. . . . . от 0,25 до 0, 35;
- гексаметаполифосфата (соль Грэхэма) . . . . . 0,0.

Как правило, значения R_F в экстрактах мяса и мясных продуктов несколько ниже.

R_F одноименных фосфатов в анализируемой пробе и контрольном растворе должны совпадать, расхождение между ними не должно превышать 0,10.

Примечание — Поправки на различия в значениях R_F фосфатов в экстракте пробы и в контрольном растворе могут быть получены помещением экстракта пробы свежего мяса на ту же пластинку. Так как свежее мясо содержит только монофосфаты, можно получить корректировку процентного содержания сравнением расстояний миграции этого стандартного пятна с соответствующим пятном контрольного раствора.

9 Требования безопасности

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

9.2 Помещение, в котором проводятся измерения, должно быть оборудовано 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.

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

Примечание — Включение в настоящий стандарт данного раздела обусловлено необходимостью приведения его в соответствие с действующими в Российской Федерации требованиями к построению и изложению стандартов.

Приложение ДА
(справочное)

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного стандарта

Таблица ДА

Структура настоящего стандарта	Структура международного стандарта ИСО 5553:1980
1 Область применения	1 Область распространения 2 Область применения
2 *Нормативные ссылки*	3 Ссылка
3 *Сущность метода*	4 Принцип
4 *Реактивы*	5 Реагенты
5 *Аппаратура, материалы*	6 Аппаратура
6 *Отбор проб*	7 Образец
7 *Порядок проведения испытаний*	8 Методика
8 *Обработка результатов*	9 Интерпретация
9 Требования безопасности	—
—	10 Отчет об испытаниях*
Приложение ДА. Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного стандарта	—

* Данный раздел в настоящем стандарте исключен необходимостью приведения его в соответствие с действующими в Российской Федерации требованиями к построению и изложению стандартов.

УДК 637.5.074:006.034 ОКС 67.120.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, обнаружение, полифосфаты, хроматографический анализ, обработка результатов, требования безопасности

Редактор *Е.В. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 18.02.2013. Подписано в печать 28.02.2013. Формат 60x84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,40.
Уч.-изд. л. 0,80. Тираж 223 экз. Зак. 227.

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