ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 70149— 2022

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение массовой доли триптофана спектрофотометрическим методом

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2022

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

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 июня 2022 г. № 469-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 (*gost.e-ecolog.ru

© Оформление. ФГБУ «РСТ», 2022

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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение массовой доли триптофана спектрофотометрическим методом

Meat and meat products. Determination of the mass fraction of tryptophan by spectrophotometric method

Дата введения — 2023—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо, включая мясо птицы, мясную продукцию и субпродукты, и устанавливает спектрофотометрический метод определения массовой доли триптофана.

Диапазон измерений массовой доли триптофана составляет от 50,0 до 1000,0 мг/100 г.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие 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 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4025 Мясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 4197 Реактивы. Натрий азотисто-кислый. Технические условия

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4288 Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса. Правила приемки и методы испытаний

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 7269 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 8756.0 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию

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

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 20469 Электромясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 23042 Мясо и мясные продукты. Методы определения жира

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

ГОСТ 26272 Часы электронно-механические кварцевые наручные и карманные. Общие технические условия

Издание официальное

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

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 31467 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 58144 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ Р ИСО 5725-2 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

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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Метод основан на выделении триптофана щелочным гидролизом из пробы, окрашивании гидролизата *п*-диметиламинобензальдегидом в кислой среде и спектрофотометрическом измерении оптической плотности раствора при длине волны (610 ± 2) нм.

4 Требования безопасности

4.1 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.

4.2 При работе с электроприборами следует соблюдать требования безопасности по ГОСТ 12.1.019.

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

4.4 К работе на аналитическом оборудовании допускается персонал, прошедший инструктаж на рабочем месте.

5 Требования к условиям измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . от 5 °С до 30 °С;
- относительная влажность воздуха . . . . . от 20 % до 80 %;
- атмосферное давление. . . . . от 84 до 106 кПа.

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр со светофильтром, обеспечивающий измерение при длине волны (610 ± 2) нм, укомплектованный стеклянными кюветами с толщиной поглощающего свет слоя 5 мм.

Гомогенизатор с частотой вращения от 8000 до 24000 об/мин либо мясорубка механическая по ГОСТ 4025 или электрическая по ГОСТ 20469.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 специального или высокого класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более ±0,001 г.

Холодильник бытовой по ГОСТ 26678.

Шкаф сушильный электрический, обеспечивающий поддержание температуры (103 ± 2) °С.

pH-метр с пределом допускаемой погрешности ±0,1 ед. pH.

Аппарат Сокслета.

Плитка электрическая.

Часы электронно-механические по ГОСТ 26272.

Банка с крышкой стеклянная или пластмассовая вместимостью 200—400 $см^3$.

Колбы мерные 1(2)-25-2; 1(2)-50-2; 1(2)-100-2; 1(2)-500-2, 1(2)-1000-2 по ГОСТ 1770.

Колба плоскодонная П-1-100-29/32 ТХС по ГОСТ 25336.

Холодильник ХСВ-29/32 ХС по ГОСТ 25336.

Цилиндры 1-100, 1-500 по ГОСТ 1770.

Фильтры складчатые из фильтровальной бумаги.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Стакан мерный (мензурка) 50(100) по ГОСТ 1770.

Пипетки 1(2)-1(2)-1(2)-1 (2, 5, 10) по ГОСТ 29227.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144.

Кислота серная по ГОСТ 4204, х. ч.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч.

п-диметиламинобензальдегид с содержанием основного вещества не менее 98,0 %.

Натрий азотистокислый по ГОСТ 4197, х. ч.

Эфир диэтиловый с содержанием основного вещества не менее 96,0 %.

L-триптофан с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

Спирт этиловый по ГОСТ 5962.

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

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб проводят по ГОСТ 4288, ГОСТ 7269, ГОСТ 8756.0, ГОСТ 9792, ГОСТ 31467.

7.2 Пробу измельчают на гомогенизаторе или дважды пропускают через мясорубку с диаметром отверстий решетки 2—4 мм и тщательно перемешивают.

7.3 Подготовленную пробу помещают в стеклянную или пластмассовую банку вместимостью 250—500 $см^3$, закрывают крышкой и хранят при температуре (4 ± 2) °С не более 24 ч.

Испытания проводят в течение 24 ч после измельчения.

8 Подготовка к испытанию

8.1 Приготовление растворов

8.1.1 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации *c*(NaOH) = = 3 моль/дм^3

120 г гидроокиси натрия растворяют в 880 см^3 дистиллированной воды, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор хранят при температуре (20 ± 2) °С не более 3 мес.

8.1.2 Приготовление раствора серной кислоты молярной концентрации *c*(H_2SO_4) = = 6 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 приливают небольшое количество дистиллированной воды, затем медленно добавляют 294 см^3 концентрированной серной кислоты (плотностью 1,84 г/см^3), охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Раствор хранят при температуре (20 ± 2) °С не более 3 мес.

8.1.3 Приготовление раствора соляной кислоты с массовой долей 10 %

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 добавляют небольшое количество дистиллированной воды, 111 см^3 концентрированной соляной кислоты (плотностью 1,19 г/см^3), доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор хранят при температуре (20 ± 2) °С не более 3 мес.

8.1.4 Приготовление раствора *п*-диметиламинобензальдегида массовой концентрации 25 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 вносят 0,625 г *п*-диметиламинобензальдегида, доводят объем раствора до метки 10 %-ным раствором соляной кислоты и перемешивают до полного растворения.

Раствор готовят перед использованием.

8.1.5 Приготовление раствора азотистокислого натрия массовой концентрации 1 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,1 г азотистокислого натрия, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор готовят перед использованием.

8.1.6 Приготовление раствора этилового спирта

Смешивают один объем 96 %-ного этилового спирта с одним объемом дистиллированной воды (соотношение 1:1 по объему).

Раствор хранят 1 мес.

8.1.7 Приготовление основного раствора триптофана массовой концентрации 1 мг/см^3

Для приготовления основного раствора триптофана навеску реактива, содержащую точно 0,1 г (100 мг) триптофана, растворяют 50—70 см^3 дистиллированной воды, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Пример расчета — При использовании L-триптофана* с содержанием основного вещества 99,0 % *массу триптофана X, в граммах, вычисляют по формуле

$$X = \frac{0,1 \cdot 100}{99} = 0,1010, \quad (1)$$

где 99 — масса основного вещества в 100 г реактива.

Раствор хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 мес.

8.1.8 Приготовление градуировочных растворов

В девять мерных колб вместимостью 50 см^3 последовательно вносят основной раствор триптофана в объемах, указанных в таблице 1. Объемы растворов доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Таблица 1

Наименование показателя	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Объем основного раствора триптофана, $см^3$	0	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
Массовая концентрация триптофана в градуировочных растворах в пересчете на массовую долю триптофана в анализируемой пробе, г/4 г навески	0	0,004	0,006	0,008	0,010	0,012	0,014	0,016	0,018

Растворы хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 недель.

8.2 Построение градуировочного графика

8.2.1 В мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ вносят по 1 $см^3$ каждого градуировочного раствора. Затем в каждую колбу добавляют по 0,5 $см^3$ раствора *п*-диметиламинобензальдегида и 0,2 $см^3$ раствора азотистокислого натрия (нитрита натрия) и осторожно приливают 28 $см^3$ концентрированной соляной кислоты. Колбы оставляют в вытяжном шкафу на 30 мин для проведения цветной реакции.

Через 30 мин содержимое колб доводят до метки раствором этилового спирта и измеряют интенсивность синей окраски растворов (оптическую плотность) на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре (с красным светофильтром) при длине волны (610 ± 2) нм в стеклянной кювете с толщиной поглощающего свет слоя 5 мм.

8.2.2 Для построения градуировочного графика вычисляют среднее арифметическое оптической плотности результатов двух измерений каждого градуировочного раствора.

По полученным средним данным строят градуировочный график, откладывая на оси абсцисс массовую концентрацию триптофана (в мг в 100 $см^3$ окрашенного раствора), а на оси ординат — соответствующее значение оптической плотности.

8.2.3 Градуировочный график проверяют по трем градуировочным растворам в том интервале, в котором проводят испытания.

Градуировку признают стабильной, если отклонение найденной массовой доли триптофана от заданного значения не превышает 5 %. В противном случае анализируют градуировочный раствор еще два раза. При повторных отклонениях, превышающих указанный норматив хотя бы один раз, градуировку проводят заново, начиная с приготовления нового основного раствора.

8.3 Подготовка пробы к испытанию

8.3.1 Навеску пробы массой 4 г, взвешенной с точностью до 0,01 г, высушивают в сушильном шкафу при температуре (103 ± 2) °С до постоянной массы. Затем проводят обезжиривание пробы на аппарате Сокслета с применением диэтилового эфира по ГОСТ 23042. После обезжиривания пробу количественно переносят в плоскодонную колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют 4 $см^3$ дистиллированной воды и 20 $см^3$ раствора гидроокиси натрия. Колбу подключают к холодильнику с охлаждением и ставят на электрическую плитку для проведения щелочного гидролиза. Гидролиз проводят в течение 2 ч с момента начала кипения.

8.3.2 После проведения гидролиза колбу охлаждают до комнатной температуры, содержимое колбы количественно переносят в мерный стакан и доводят pH гидролизата до 6,5 с помощью раствора серной кислоты. После этого доводят объем раствора дистиллированной водой до 50 $см^3$, перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр из фильтровальной бумаги.

9 Проведение испытания

9.1 Подготовку спектрофотометра или фотоэлектроколориметра к проведению измерений осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации прибора.

9.2 В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ фильтрата, добавляют 0,5 $см^3$ раствора *п*-диметиламинобензальдегида и 0,2 $см^3$ раствора азотистокислого натрия (нитрита натрия) и осторожно

добавляют 28 см^3 концентрированной соляной кислоты. Колбу оставляют в вытяжном шкафу на 30 мин для проведения цветной реакции.

Через 30 мин содержимое колбы доводят до метки раствором этилового спирта и измеряют интенсивность синей окраски раствора (оптическую плотность) на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре (с красным светофильтром) при длине волны (610 ± 2) нм в стеклянной кювете с толщиной поглощающего свет слоя 5 мм.

10 Обработка результатов

10.1 Массовую долю триптофана X, мг/100 г продукта, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot V}, \quad (2)$$

где C — массовая концентрация триптофана, найденная по градуировочному графику, мг/см^3;

50 — объем гидролизата после первого разведения, см^3;

100 — объем раствора после проведения цветной реакции, см^3;

m — масса пробы, г;

V — объем разбавленного гидролизата, взятый для проведения цветной реакции, см^3.

10.2 За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений, полученных в условиях повторяемости.

11 Метрологические характеристики

11.1 Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 2.

Таблица 2

Наименование показателя	Диапазон измерений, мг/100 г	Показатели точности		
		Границы относительной погрешности, ±δ, %	Предел повторяемости (сходимости), r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Массовая доля триптофана	от 50,0 до 1000,0 включ.	20	$0{,}10 \cdot X_{ср}$	$0{,}25 \cdot X_{ср}$

11.2 Расхождение между результатами двух параллельных измерений, выполненных одним оператором при испытании одной и той же пробы с использованием одних и тех же средств измерений и реактивов, не должно превышать предела повторяемости (сходимости) r, значения которого приведены в таблице 2.

Расхождение между результатами двух измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R, значения которого приведены в таблице 2.

Границы относительной погрешности результатов измерений (±δ), находящиеся с доверительной вероятностью P = 0,95, при соблюдении условий настоящего стандарта не должны превышать значений, приведенных в таблице 2.

12 Контроль точности результатов измерений

12.1 Контроль стабильности результатов измерений (повторяемости, промежуточной прецизионности и погрешности) проводят в соответствии с порядком, установленным в лаборатории, по ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (подраздел 6.2).

12.2 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости), осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-2. Расхождение меж-

ду результатами измерений не должно превышать предела повторяемости *r*. Значения *r* приведены в таблице 2.

12.3 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ Р ИСО 5725-2. Расхождение между результатами измерений, полученными двумя лабораториями, не должно превышать предела воспроизводимости *R*. Значения *R* приведены в таблице 2.

13 Оформление результатов испытаний

13.1 Результат измерений массовой доли триптофана в пробе при $P = 0,95$ представляют в виде

$$X_{ср} \pm \Delta, \text{ мг/100 г,}$$

где $X_{ср}$ — среднее арифметическое результатов двух измерений, признанных приемлемыми, мг/100 г;

Δ — границы абсолютной погрешности измерений, 20 % $\cdot X_{ср}$.

Границы абсолютной погрешности измерений округляют до двух значащих цифр. Числовое значение результата измерения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение погрешности.

УДК 637.5.04.07:006.354 ОКС 67.120.10

Ключевые слова: мясо, мясо птицы, субпродукты, мясная продукция, спектрофотометрический метод, определение, триптофан

Редактор *З.А. Лиманская*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 16.06.2022. Подписано в печать 23.06.2022. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,18.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «РСТ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru