МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 5553— 2013

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Обнаружение полифосфатов

(ISO 5553:1980, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» и Межгосударственным техническим комитетом МТК 534 «Обеспечение безопасности сельскохозяйственной продукции и продовольственного сырья на основе принципов НАССР» на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии указанного в пункте 5 стандарта

2 ВНЕСЕН Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г. № 44-2013)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ISO 3166) 004—97	Код страны по МК (ISO 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 мая 2016 г. № 363-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 5553—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 5553:1980 «Мясо и мясные продукты. Обнаружение полифосфатов» («Meat and meat products — Detection of polyphosphates, IDT»).

Международный стандарт ISO 5553 разработан Техническим комитетом ISO/TC 34 «Сельскохозяйственные продукты».

В разделе «Нормативные ссылки» ссылки на международные стандарты актуализированы.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам приведены в дополнительном приложении ДА.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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 (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2016

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 Область распространения . . . 1
3 Нормативные ссылки . . . 1
4 Сущность метода . . . 1
5 Реактивы . . . 1
6 Аппаратура . . . 2
7 Проба . . . 2
8 Проведение определения . . . 3
9 Обработка результатов . . . 4
10 Протокол испытаний . . . 4
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам . . . 5

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

Обнаружение полифосфатов

Meat and meat products.
Detection of polyphosphates

Дата введения — 2017—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод обнаружения полифосфатов в мясе и мясных продуктах при помощи тонкослойного хроматографического разделения.

2 Область распространения

Поскольку фосфаты постепенно гидролизуются энзимами, присутствующими в мясе или мясных продуктах и при термообработке мяса или мясного продукта, настоящий стандарт применяется только к выявлению добавленных полифосфатов, присутствующих в пробе во время анализа.

3 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы:

ISO 17604:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Carcass sampling for microbiological analysis (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Отбор проб с туши для микробиологического анализа)[1)]

4 Сущность метода

Экстракция мяса или мясного продукта трихлоруксусной кислотой. Очистка полученного экстракта от серосодержащих веществ смесью этанола с диэтиловым эфиром. Разделение фосфатов тонкослойной хроматографией и выявление полифосфатов при распылении реагентами для проявления цвета.

5 Реактивы

Используют только реактивы квалификации «химически чистый», а также дистиллированную или деминерализованную воду или воду с эквивалентной чистотой.

Примечание — Все соответствующие меры обеспечения безопасности должны соблюдаться при выполнении процедур, установленных в стандарте.

5.1 Трихлоруксусная кислота.

[1)] Заменен на ISO 17604:2015 «Микробиология пищевой цепи. Отбор проб с туши для микробиологического анализа».

Издание официальное

5.2 Диэтиловый эфир.
5.3 Этанол, 95 % (*V*/*V*).
5.4 Порошок клетчатки для тонкослойной хроматографии.
5.5 Растворимый крахмал.

5.6 Эталонная смесь

Растворяют в 100 $см^3$ воды:
- 200 мг моногидрата дигидрофосфата натрия ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$);
- 300 мг дифосфата натрия десятиводного ($Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$);
- 200 мг трифосфата натрия ($Na_5P_3O_{10}$);
- 200 мг метафосфата натрия $(NaPO_3)_x$ [$x > 10$].

Эталонная смесь стабильна при температуре 4 °С в течение четырех недель.

5.7 Проявляющий растворитель

Смешивают 140 $см^3$ изопропилового спирта, 40 $см^3$ раствора (концентрация 135 $г/дм^3$) трихлорукусусной кислоты и 0,6 $см^3$ гидроксида аммония (водного раствора аммиака), ρ_{20} = 0,90 $г/см^3$, около 25 % (по массе) раствора.

Растворитель хранят в плотно закрытой бутылке.

5.8 Реактив для распыления I

Смешивают равные объемы раствора (концентрация 75 $г/дм^3$) молибдата тетрагидрата аммония $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$ и концентрированной азотной кислоты (ρ_{20} = 1,40 $г/см^3$) и растворяют 10 г винной кислоты в 100 $см^3$ этой смеси.

5.9 Реактив для распыления II

Растворяют 0,5 г 1-амино-2-нафтол-4-сульфоновой кислоты в смеси 195 $см^3$ (концентрация 150 $г/дм^3$) раствора дисульфита натрия (метабисульфит натрия; $Na_2S_2O_5$) и 5 $см^3$ (концентрация 200 $г/дм^3$) раствора сульфита натрия (Na_2SO_3). Растворяют 40 г тригидрата ацетата натрия ($NaOOCCH_3 \cdot 3H_2O$) в этой смеси.

Хранят реактив в плотно закрытой емкости из темного стекла в холодильнике. После недельного срока хранения раствор отбраковывают.

6 Аппаратура

6.1 Стеклянные пластины, тщательно обезжиренные, 10 см × 20 см.

6.2 Устройство для распределения, для приготовления слоев 0,25 мм толщиной. Если такое устройство недоступно, можно использовать готовые тонкие пластины с толщиной слоя 0,25 мм при условии, что в качестве связующего используют крахмал. Пластины, содержащие гипс (сульфат кальция), не пригодны.

6.3 Лабораторный миксер.

6.4 Эксикатор.

6.5 Механическая мясорубка, снабженная пластинами с отверстиями диаметром, не превышающим 4 мм.

6.6 Гофрированная фильтровальная бумага, диаметром 15 см.

6.7 Микропипетка, 1 $мм^3$, или микрошприц с микрометрическим винтом и согнутым стеклянным наконечником.

6.8 Линованная по бумаге стеклянная емкость соответствующих размеров с плотно закрывающейся крышкой для проявления тонкослойных хроматограмм.

6.9 Фен, способный подавать струю теплого воздуха.

6.10 Распылитель.

6.11 Сушильный шкаф с температурой нагрева 60 °С.

7 Проба

7.1 Продолжают от лабораторной пробы массой 200 г (см. ISO 17604).

7.2 Анализируемую пробу готовят в день приема в лабораторию.

8 Проведение определения

8.1 Приготовление тонкослойных пластин

Растворяют 0,3 г крахмала (см. 5.5) в 90 $см^3$ кипящей воды. Охлаждают, добавляют 15 г порошка клетчатки (см. 5.4) и гомогенизируют в лабораторном миксере (см. 6.3) в течение 1 мин.

Суспензию наносят на стеклянные пластины (см. 6.1) при помощи прибора для равномерного распределения (см. 6.2), приспособленного для получения слоя толщиной 0,25 мм.

Сушат пластины на воздухе в покое в течение 60 мин при комнатной температуре и нагревают их окончательно в течение 10 мин при температуре 100 °С.

Хранят пластины в эксикаторе (см. 6.4).

Также возможно использование готовых пластин (см. 6.2).

8.2 Приготовление испытуемой пробы

Гомогенизируют пробу, пропустив ее не менее двух раз через мясорубку (см. 6.5), помешивая. Хранят пробу в заполненном доверху герметичном закрытом контейнере и по необходимости в холодильнике. Анализируют пробу сразу, но не позднее чем в течение 5 ч.

8.3 Приготовление сыворотки

8.3.1 Размачивают 50 г анализируемой пробы (см. 8.2) в 15 $см^3$ воды при температуре от 40 до 60 °С в химическом стакане, используя лопатку или стержень для размешивания, в течение 5 (не более пяти) мин до получения однородной массы.

8.3.2 Добавляют 10 г трихлоруксусной кислоты (см. 5.1) и вновь тщательно размешивают.

8.3.3 Немедленно помещают в холодильник на 1 ч и затем собирают отделившуюся сыворотку, сливая через гофрированную фильтровальную бумагу (см. 6.6).

8.3.4 Если фильтрат мутный, встряхивают один раз с равным объемом диэтилового эфира (см. 5.2). Удаляют слой эфира небольшой пипеткой и добавляют равный объем этанола (см. 5.3) к водной фазе. Встряхивают в течение 1 мин. Отстаивают смесь в течение нескольких минут и фильтруют через гофрированную фильтровальную бумагу (см. 6.6).

8.4 Хроматографическое разделение

8.4.1 Наливают проявляющий разбавитель (см. 5.7) в проявляющую емкость (см. 6.8) высотой от 5 до 10 мм и закрывают емкость крышкой. Отстаивают в течение 30 мин при температуре окружающей среды в защищенном от солнечного света и сквозняка месте.

8.4.2 Наносят 3 $мм^3$ сыворотки или 6 $мм^3$, если выполнялась процедура очистки согласно 8.3.4, на слой клетчатки (см. 8.1) по линии, проведенной карандашом на расстоянии 2 см от дна. Пятна наносят небольшие, по 1 $мм^3$.

Для сушки используют теплый поток воздуха от фена (см. 6.9).

Примечание — Следует избегать попадания горячего воздуха во избежание опасности гидролиза фосфатов.

8.4.3 Таким же образом наносят 3 $мм^3$ эталонной смеси (см. 5.6) на пластину на расстоянии от 1 до 1,5 см от места пробы, но точно на таком же расстоянии от дна.

8.4.4 Снимают крышку с емкости и быстро, но осторожно, помещают пластину с клетчаткой в емкость. Сразу закрывают крышкой. Проявляют пластину при температуре окружающей среды в защищенном от солнечного света и сквозняках месте.

8.4.5 Продолжают проявление до момента поднятия верхней части растворителя от линии, проведенной карандашом, приблизительно на 10 см. Вынимают пластину из емкости и сушат в течение 10 мин в сушильном шкафу (см. 6.11) при 60 °С или в потоке холодного воздуха.

8.5 Выявление фосфатов

8.5.1 Пластину размещают вертикально под вытяжной трубой и равномерно опыляют пластину реагентом-распылителем (см. 5.8).

Желтые пятна проявляются сразу же.

8.5.2 Пластины сушат в потоке теплого воздуха от фена (см. 6.9). Постепенно нагревают в печи в течение 1 ч при 100 °С для удаления последних следов азотной кислоты. Удаляют пластину из печи и проверяют отсутствие резкого запаха азотной кислоты.

8.5.3 Охлаждают пластину до комнатной температуры и затем помещают ее в вытяжной шкаф. Пластину равномерно покрывают реактивом для распыления II (см. 5.9).

Сразу появляются голубые пятна.

Примечание — Распыление реагентом II не является абсолютно необходимым. Тем не менее насыщенные голубые пятна, полученные этим реактивом, значительно улучшают обнаружение.

9 Обработка результатов

Расстояния перемещений сравнивают от стартовой линии до линии фронта фосфатных пятен пробы с расстояниями пятен фосфатов, которые присутствовали в эталонной смеси.

Ортофосфатное пятно присутствует всегда. Если проба содержит уплотненные (сгущенные) фосфаты, то должны быть видимы пятна дифосфата и/или пятна более высоко полимеризованных фосфатов.

Значения R_F фосфатов в эталонной смеси следующие:

Ортофосфат . . . . . от 0,80 до 0,90;

Дифосфат (пирофосфат) . . . . . от 0,50 до 0,60;

Трифосфат . . . . . от 0,25 до 0,35;

Гексаметаполифосфат (соль Грэхэма) . . . . . 0,0.

Как правило, значения R_F фосфатов в экстрактах мяса и мясных продуктах немного ниже.

Примечание — Поправки на разницу значений R_F фосфатов в экстракте пробы и в эталонной смеси могут быть получены при размещении экстракта пробы свежего мяса на эту же пластину. Поскольку свежее мясо содержит только монофосфаты, процентная поправка может быть получена сравнением расстояний перемещения пятна настоящего стандарта с соответствующим пятном эталонной смеси.

10 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен установить:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- используемый метод отбора проб;
- использованный метод анализа по отношению к настоящему стандарту;
- все детали испытаний, не установленные в настоящем стандарте или расцененные как дополнительные, вместе с подробностями любых инцидентов, которые, возможно, повлияли на результаты анализа;
- полученный результат анализа;
- при проверке повторяемости (сходимости) — последний полученный приведенный результат.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 17604	—	*[1)]
* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.		

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 17604—2011 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Отбор проб с туши для микробиологического анализа».

УДК 637.5:637.07:006.354 МКС 67.120.10 IDT

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, обнаружение полифосфатов, анализируемая проба, хроматографическое разделение, выявление фосфатов

Редактор *Д.А. Мезинова*
Корректор *Г.В. Яковлева*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 10.06.2016. Подписано в печать 12.08.2016. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,17.

Набрано в ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Издано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995, Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru