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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 23041— 2015

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения оксипролина

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова» (ФГБНУ «ВНИИМП им. В.М. Горбатова»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 18 июня 2015 г. № 47)

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
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 августа 2015 г. № 1170-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 23041—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 23041—78

*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, 2015

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения оксипролина

Meat and meat products.
Method for determination of oxyproline

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на все виды мяса, включая мясо птицы, мясные и мясосодержащие продукты, и устанавливает спектрофотометрический метод определения (анализа) оксипролина.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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 номенклатура видов защиты

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

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 199—78 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 745—2003 Фольга алюминиевая для упаковки. Технические условия

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 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-2—2003** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

---

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

** В Российской Федерации действует 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».

Издание официальное

ГОСТ ИСО 5725-6—2003* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7269—79 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 7702.2.0—95 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птичьи. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ 8756.0—70 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию

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

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 20469—95 Электромясорубки бытовые. Технические условия

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

ГОСТ 26272—98 Часы электронно-механические кварцевые наручные и карманные. Общие технические условия

ГОСТ 26678—85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

ГОСТ 29224—91 (ИСО 386—77) Посуда лабораторная стеклянная. Термометры жидкостные стеклянные лабораторные. Принципы устройства, конструирования и применения

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

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 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, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **массовая доля оксипролина в мясе, мясных и мясосодержащих продуктах:** Массовая доля L-оксипролина, определенная в соответствии с методом, изложенным в настоящем стандарте, и выраженная в процентах к массе пробы продукта.

4 Сущность метода

Метод основан на выделении L-оксипролина при кислотном гидролизе пробы продукта, проведение цветной реакции с продуктами окисления ее с образованием соединения красного цвета и фотометрическом измерении оптической плотности раствора при длине волны (558 ± 2) нм.

5 Требования безопасности

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

5.2 Помещение, в котором проводятся измерения, должно быть оснащено 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.

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

---

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Гомогенизатор или мясорубка механическая по ГОСТ 4025 или электрическая по ГОСТ 20469, с решеткой, диаметр отверстий которой не более 4,5 мм.

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры на уровне (60 ± 5) °С.

Баня песчаная.

Спектрофотометр, обеспечивающий измерение при длине волны (558 ± 2) нм, или фотоэлектроколориметр со светофильтром, имеющим максимум поглощения при длине волны (558 ± 2) нм, укомплектованный кюветами стеклянными с длиной рабочей грани 10 мм.

Весы неавтоматического действия с допускаемой погрешностью взвешивания не более ± 0,001 г по ГОСТ OIML R 76-1.

Холодильник по ГОСТ 26678.

Колбы мерные с одной отметкой 2-100-1, 2-250-1, 2-1000-1 по ГОСТ 1770.

Колбы конические Кн 1-250-29/32 ТС по ГОСТ 25336.

Пробирки П2-10-90 ХС по ГОСТ 25336.

Воронки В-56-80 ХС или В-75-110 ХС или ВР-56 ХС по ГОСТ 25336.

Холодильники ХПТ 2-400-29/32 ХС или 2-600-29/32 ХС по ГОСТ 25336.

Пипетки градуированные 1-1-1-1, 1-1-1-2, 1-1-1-5, 1-1-1-10 по ГОСТ 29227.

Фольга алюминиевая по ГОСТ 745.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Часы электронно-механические по ГОСТ 26272.

pH-метр.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота лимонная по ГОСТ 3652, х. ч.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, х. ч.

Натрий уксуснокислый по ГОСТ 199, ч. д. а.

Термометр жидкостной по ГОСТ 29224, диапазон измерения температуры от 0 °С до 100 °С, цена деления шкалы 0,1 °С.

Бумага индикаторная универсальная, диапазон измерения pH 0-12.

Парадиметиламинобензальдегид, х. ч.

Хлорамин-Т, ч. д. а.

Хлорамин-Б, ч. д. а.

Кислота хлорная, х. ч.

Спирт пропиловый, х. ч.

Спирт изопропиловый, х. ч.

L-Оксипролин, с массовой долей основного вещества не менее 99,4 %.

Примечание — Допускается применение других средств контроля и вспомогательных устройств с техническими и метрологическими характеристиками не ниже указанных, а также реактивов и материалов не ниже указанной степени чистоты и по качеству не ниже указанных.

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб — по ГОСТ 7269, ГОСТ 9792, ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 8756.0.

Проба должна быть представительной, а также без повреждений и изменений качества продукта при транспортировании и хранении.

От представительной пробы отбирают пробу массой не менее 200,0 г.

Пробу хранят таким образом, чтобы предотвратить порчу и изменение химического состава.

7.2 Пробу измельчают на гомогенизаторе или дважды пропускают через мясорубку и тщательно перемешивают. При этом температура пробы должна быть не более 25 °С.

Подготовленную пробу помещают в воздухонепроницаемый сосуд, закрывают крышкой и хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С — не более 5 сут.

Анализ проводят в течение 24 ч после измельчения пробы.

8 Подготовка к анализу

8.1 Приготовление растворов

8.1.1 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации c (HCl) = 6 моль/дм^3.

Смешивают 1 объем соляной кислоты (ρ_{20} = 1,19 г/см^3) с 1 объемом дистиллированной воды. Раствор хранят при температуре (20 ± 2) °С не более 1 мес.

8.1.2 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 10 моль/дм^3.

Растворяют 400 г натрия гидроокиси в 700 см^3 дистиллированной воды.

Охлаждают и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают. Раствор хранят при температуре (20 ± 2) °С не более 1 мес.

8.1.3 Приготовление буферного раствора (pH = 6,0 ед.)

50 г лимонной кислоты, 12 см^3 уксусной кислоты, 120 г уксуснокислого натрия, 34 г гидроокиси натрия растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают. Полученный раствор смешивают с 200 см^3 дистиллированной воды и 300 см^3 пропилового или изопропилового спирта. Измеряют pH полученного раствора на pH-метре и, при необходимости, доводят pH раствора до значения pH = 6,0 ед. уксусной кислотой или раствором гидроокиси натрия. Раствор хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С не более 1 мес.

8.1.4 Приготовление реактива для окисления

1,41 г хлорамина-Т или хлорамина-Б растворяют в 10 см^3 дистиллированной воды, добавляют 10 см^3 пропилового или изопропилового спирта и 80 см^3 буферного раствора. Раствор готовят в день использования.

8.1.5 Приготовление цветного реактива

10 г парадиметиламинабензальдегида растворяют в 35 см^3 хлорной кислоты, непрерывно перемешивая. Полученный раствор смешивают с 65 см^3 пропилового или изопропилового спирта. Раствор готовят в день использования.

8.1.6 Приготовление основного раствора L-оксипролина массовой концентрации c ($C_5H_9NO_3$) = 1 г/дм^3

100 мг L-оксипролина растворяют в мерной колбе вместимостью 100 см^3 дистиллированной водой, добавляют одну каплю раствора соляной кислоты, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре (20 ± 2) °С не более 7 сут.

8.1.7 Приготовление рабочего раствора L-оксипролина массовой концентрации c ($C_5H_9NO_3$) = 0,01 г/дм^3

1 см^3 основного раствора растворяют в мерной колбе вместимостью 100 см^3 дистиллированной водой, доводят до метки и перемешивают. Раствор готовят перед использованием.

8.1.8 Приготовление градуировочных растворов L-оксипролина

В мерные колбы вместимостью 100 см^3 вносят 5, 10, 20, 30 см^3 рабочего раствора L-оксипролина. Доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают. Раствор готовят перед использованием.

Полученные градуировочные растворы содержат 0,5; 1; 2 и 3 мкг/см^3 L-оксипролина соответственно.

8.1.9 Построение градуировочного графика

8.1.9.1 В пробирки вносят по 4 см^3 каждого градуировочного раствора L-оксипролина, добавляют 2 см^3 реактива для окисления, перемешивают и выдерживают при температуре (20 ± 2) °С 20 мин. Затем добавляют 2 см^3 цветного реактива, перемешивают, закрывают пробирку алюминиевой фольгой и помещают на водяную баню с температурой (60 ± 0,5) °С и выдерживают 15 мин. Одновременно готовят два контрольных раствора, используя вместо градуировочных растворов дистиллированную воду.

8.1.9.2 Измеряют оптическую плотность в соответствии с 9.6 и 9.7.

8.1.9.3 По средним данным, полученным из трех основных растворов L-оксипролина, строят градуировочный график, откладывая измеренные значения оптической плотности на оси ординат против соответствующих концентраций разбавленных градуировочных растворов оксипролина на оси абсцисс и проводя прямую линию через отложенные точки и начало координат.

9 Проведение анализа

9.1 В коническую колбу вместимостью 250 см^3 помещают около 4 г подготовленной анализируемой пробы, взвешенной с точностью до третьего десятичного знака и добавляют 100 см^3 раствора соляной кислоты молярной концентрации c(HCl) = 6 моль/дм^3.

9.2 Гидролиз анализируемой пробы проводят в течение 8 ч на песчаной бане, соединив коническую колбу с холодильником.

9.3 Полученный теплый гидролизат фильтруют через бумажный фильтр, используя воронку, в мерную колбу вместимостью 250 см^3, промывая коническую колбу и фильтр дистиллированной водой температурой 60 °С—70 °С. Содержимое колбы охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

9.4 4—10 см^3 гидролизата (в зависимости от предполагаемого содержания оксипролина в пробе) вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 50—60 см^3 дистиллированной воды и нейтрализуют раствором гидроокиси натрия c(NaOH) = 10 моль/дм^3 до pH = 6,0 по индикаторной бумаге. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

9.5 В пробирку вносят 4 см^3 раствора гидролизата, добавляют 2 см^3 реактива для окисления, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 20 мин. Затем добавляют 2 см^3 цветного реактива, перемешивают, закрывают пробирку алюминиевой фольгой и помещают на водяную баню с температурой (60,0 ± 0,5) °С и выдерживают 15 мин. Одновременно готовят два контрольных раствора, используя вместо гидролизата дистиллированную воду.

9.6 Пробирки охлаждают в течение 3 мин водой или льдом и не позднее чем через 30 мин измеряют оптическую плотность раствора.

9.7 Измеряют оптическую плотность раствора при длине волны (558 ± 2) нм в стеклянной кювете относительно контрольного раствора, используя спектрофотометр или фотоэлектроколориметр со светофильтром.

9.8 По градуировочному графику, построенному в соответствии с 8.1.9, находят концентрацию L-оксипролина в растворе пробы.

9.9 Для проверки выполнения условий повторяемости (сходимости) проводят два параллельных определения в соответствии с 9.1—9.7.

10 Обработка результатов

Массовую долю L-оксипролина X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot V \cdot 10^6}, \quad (1)$$

где C — концентрация L-оксипролина найденная по градуировочному графику, мкг/см^3;

250 — объем гидролизата см^3;

100 — объем раствора, полученный после разбавления гидролизата, см^3;

100 — коэффициент пересчета в проценты;

m — масса навески, г;

V — объем гидролизата, отобранный для нейтрализации, см^3;

10^6 — коэффициент пересчета мкг в г.

Вычисление проводят до четвертого десятичного знака.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округленное до третьего десятичного знака, если удовлетворяются условия повторяемости (сходимости).

11 Метрологические характеристики

Точность метода установлена межлабораторными испытаниями выполненными в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6.

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

Таблица 1

Наименование определяемого показателя	Показатели точности			
	Диапазон измерений массовой доли, %	Границы относительной погрешности, ± δ, %	Предел повторяемости (сходимости) r, %	Предел воспроизводимости R, %
Массовая доля оксипролина	от 0,003 до 0,280 включ.	12	0,10 $x_{ср}$	0,25 $X_{ср}$
	св. 0,280 до 1,000 включ.	8	0,05 $x_{ср}$	0,1 $X_{ср}$
$x_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, %; $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух определений, выполненных в разных лабораториях, %.				

Расхождение между результатами двух параллельных определений, выполненных одним оператором при анализе 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 1.

$$|x_1 - x_2| \le r, \quad (2)$$

где x_1 и x_2 — результаты двух параллельных определений, %;
r — предел повторяемости, %.

Расхождение между результатами двух определений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R, значения которого приведены в таблице 1.

$$|X_1 - X_2| \le R, \quad (3)$$

где X_1 и X_2 — результаты двух определений, выполненных в разных лабораториях, %;
R — предел воспроизводимости, %.

Границы относительной погрешности, результата измерений (± δ) $P = 0,95$, при соблюдении условий настоящего стандарта, не должны превышать значений, приведенных в таблице 1.

12 Контроль точности результатов измерений

12.1 Процедуру контроля стабильности показателей качества результатов анализа (повторяемости, промежуточной прецизионности и погрешности) проводят в соответствии с порядком, установленным в лаборатории, в соответствии с пунктом 6.2 по ГОСТ ИСО 5725-6.

12.2 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости), осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-2. Расхождение между результатами измерений не должно превышать предела повторяемости (r). Значения r приведены в таблице 1.

12.3 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-2. Расхождение между результатами измерений, полученными двумя лабораториями, не должно превышать предела воспроизводимости (R). Значения R приведены в таблице 1.

УДК 637.5.07:006.354 МКС 67.120.10

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, мясосодержащие продукты, мясо птицы, оксипролин, L-оксипролин, спектрофотометрический метод

Редактор *Р.Г. Говердовская*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 26.10.2015. Подписано в печать 13.11.2015. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90. Тираж 57 экз. Зак. 3627.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru