ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53514— 2009

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

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

Издание официальное

БЗ 8—2009/383

Москва
Стандартинформ
2010

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

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 декабря 2009 г. № 748-ст

4 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, 2010

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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

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

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

Дата введения — 2010—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 белков в составе мясного сырья и мясных продуктов, не подвергнутых тепловой обработке.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 50444—92 Приборы, аппараты и оборудование медицинские. Общие технические условия

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

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 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9656—75 Реактивы. Кислота борная. Технические условия

ГОСТ 10652—73 Реактивы. Соль динатриевая этилендиамин-N, N, N′, N′-тетрауксусной кислоты 2-водная (трилон Б). Технические условия

ГОСТ 20903—75 Кюветы прямоугольные кварцевые для спектрофотометров. Основные размеры. Технические требования

ГОСТ 25011—81 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка

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

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

Издание официальное

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, 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 $\pm\delta$, %	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 ГОСТ Р 51447.

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 СФ-103 типа «Аквилон», обеспечивающий измерения в диапазоне длин волн от 200 до 900 нм по [1].

Кюветы кварцевые толщиной 1 см по ГОСТ 20903.

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

Микроизмельчитель тканей РТ-2 по [2] 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 по ГОСТ Р 50444 и [3].

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 по [4].

Свинина, говядина, баранина с массовой долей белка по Кьельдалю не менее 18 % по ГОСТ 25011 для использования в качестве контрольного образца.

Соевый изолят с массовой долей белка по Кьельдалю не менее 85 % по ГОСТ 25011.

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 (говяжьего, свиного, 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 из двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

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

где C_1 и C_2 — результаты параллельных определений массовой доли животного (говяжьего, свиного, 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] ТУ 4434-010-18294344—2002 Спектрофотометры СФ-101, СФ-103

[2] ТУ 64-1-1505—79 Микроизмельчитель тканей РТ-2

[3] ТУ 64-1-3329—81 Дозаторы пипеточные

[4] ТУ 42 КВС 13—74 Сыворотка, преципитирующая белки сыворотки крови свиньи, мелкого рогатого скота, крупного рогатого скота, раствор для диагностических целей (рег. № ФСР 2007/00346 от 11.07.07)

УДК 637.5.045:633.34:537.3:006.354 ОКС 67.120.10 Н19

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

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Т.И. Кононенко*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 09.07.2010. Подписано в печать 05.08.2010. Формат 60x84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,70. Тираж 226 экз. Зак. 631.

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