
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

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

© Стандартиформ. 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

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

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 $r_{95\%}$, %	Предел воспроизводимости $R_{95\%}$, %
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 см³ по ГОСТ 1770.

Цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 250 см³ 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(гидроксиэтил)-1,3-пропандиол (ТРИС) с массовой долей основного вещества 99,9 %.

Соль динатриевая этилендиамина-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(гидроксиэтил)-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 см³ и при перемешивании добавляют 100 — 150 см³ 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 см³ с помощью мерного цилиндра вносят 50 см³ концентрированного буферного раствора. Раствор в колбе доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают и получают рабочий буферный раствор, содержащий в 1 см³ 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 см³ 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 мм³ экстракта пробы смешивают с 400 мм³ рабочего буферного раствора, измеряют фоновое поглощение на спектрофотометре при $\lambda = 405$ нм (контроль), затем добавляют 20 мм³ 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 мясо-растительных 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 С, % 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 С, % 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 С, % 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 $B_{ж}$, %, относительно массовой доли общего белка, вычисляют по формуле

$$B_{ж} = \frac{C}{B_{к}} \cdot 100, \quad (1)$$

где C — среднеарифметическое значение массовой доли животного (говяжьего, свиного, бараньего) белка в испытуемой пробе, %;

$B_{к}$ — 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:

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

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.И. 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.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6