
ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(EASC)

EURO-ASIAN CONCIL FOR STANDARTIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(EASC)



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
(проект, RU, первая
редакция)

БЕЛКИ ЖИВОТНЫЕ
Общие технические условия

Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его утверждения

Минск
Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации
2014

Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в 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, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № _____ от _____)

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
Азербайджан	AZ	Азгосстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Грузия	GE	Грузстандарт
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Туркмения	TM	Главгосслужба Туркменстандартлары»
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Госпотребстандарт Украины

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах.

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе (каталоге) «Межгосударственные стандарты», а текст этих изменений – в информационных указателях «Межгосударственные стандарты». В случае пересмотра или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Межгосударственные стандарты»

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным органам по стандартизации этих государств

Содержание

1 Область применения	
2 Нормативные ссылки	
3 Термины и определения	
4 Классификация	
5 Технические требования	
6 Правила приемки	
7 Методы контроля	
8 Транспортирование и хранение	
Библиография	

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

БЕЛКИ ЖИВОТНЫЕ

Общие технические условия

Animal protein

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на животные белки, полученные из коллагенсодержащего животного сырья, за исключением кости, предназначенные для промышленной переработки при производстве продуктов питания (далее – животные белки).

Настоящий стандарт не распространяется на животные белки с пищевыми добавками, технологическими вспомогательными средствами, ароматизаторами, а также с белковыми и прочими компонентами, полученными из сырья иного происхождения, чем коллагенсодержащее животное сырье, в том числе белки, полученные из кости.

Требования, обеспечивающие безопасность животных белков, изложены в 5.2.3, 5.2.4, требования к качеству – в 5.2.1, 5.2.2, к маркировке – в 5.4.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 8.579-2002 Государственная система обеспечения единства измерений. Требования к количеству фасованных товаров в упаковках любого вида при их производстве, расфасовке, продаже и импорте

ГОСТ 61-75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

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

ГОСТ 215-73 Термометры ртутные стеклянные лабораторные. Технические условия

ГОСТ 745-2003 Фольга алюминиевая для упаковки. Технические условия

ГОСТ 779–55 Мясо-говядина в полутушах и четвертинах. Технические условия

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

ГОСТ 1341-97 Пергамент растительный. Технические условия

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

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3560-73 Лента стальная упаковочная. Технические условия

ГОСТ 3652-69 Реактивы. Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия

ГОСТ 4165-78 Реактивы. Медь II серноокислая 5-водная. Технические условия

ГОСТ 4204-77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5556-81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5962-67 - Спирт этиловый ректифицированный. Технические условия

ГОСТ 5981-2011 Банки и крышки металлические для консервов. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ ISO 7218–2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ 9142-90 Ящики из гофрированного картона. Общие технические условия

ГОСТ 9656-75 Реактивы. Кислота борная. Технические условия

ГОСТ 10354-82 Пленка полиэтиленовая. Технические условия

ГОСТ 10444.12-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов

ГОСТ 10444.15-94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13513-86 Ящики из гофрированного картона для продукции мясной и молочной промышленности. Технические условия

ГОСТ 14192-96 Маркировка грузов

ГОСТ 15846-2002 Продукция, отправляемая в районы Крайнего Севера и приравненные к ним местности. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

ГОСТ 18251-87 Лента клеевая на бумажной основе. Технические условия

ГОСТ 18321-73 Статистический контроль качества. Методы случайного отбора выборок штучной продукции

ГОСТ 20477-86 Лента полиэтиленовая с липким слоем. Технические условия

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

ГОСТ 21650-76 Средства скрепления тарно-штучных грузов в транспортных пакетах. Общие требования

ГОСТ 24597-81 Пакеты тарно-штучных грузов. Основные параметры и размеры

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

ГОСТ 25794.1-83 Реактивы. Методы приготовления титрованных растворов для кислотно-основного титрования

ГОСТ 25951-83 Пленка полиэтиленовая термоусадочная. Технические условия

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

ГОСТ 26663-85 Пакеты транспортные. Формирование с применением средств пакетирования. Общие технические требования

ГОСТ 26669-85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

ГОСТ 26670-91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов

ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути

ГОСТ 26929-94 Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов

ГОСТ 26930-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка

ГОСТ 26932-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца

ГОСТ 26933-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения кадмия

ГОСТ 29224-91 Посуда лабораторная стеклянная. Термометры жидкостные стеклянные лабораторные. Принципы устройства, конструирования и применения

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 29251-91 Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов

ГОСТ 30538-97 Продукты пищевые. Методика определения токсичных элементов атомно-эмиссионным методом

ГОСТ 31476-2012 Свины для убоя. Свирина в тушах и полутушах. Технические условия

ГОСТ 31628-2012 Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсион-

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

но-вольтамперометрический метод определения массовой концентрации мышьяка

ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*

ГОСТ 31671-2012 Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Подготовка проб методом минерализации при повышенном давлении

ГОСТ 31694-2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания антибиотиков тетрациклиновой группы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

ГОСТ 31747-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформенных бактерий)

ГОСТ 31778-2012 Мясо. Разделка свинины на отрубы. Технические условия

ГОСТ 31797-2012 Мясо. Разделка говядины на отрубы. Технические условия

ГОСТ 31903-2012 Продукты пищевые. Экспресс-метод определения антибиотиков

ГОСТ 31904-2012 Продукты пищевые. Метод отбора проб для микробиологических испытаний

ГОСТ 32008-2012 Мясо и мясные продукты. Определение содержания азота (арбитражный метод)

ГОСТ 32161-2013 Продукты пищевые. Метод определения содержания цезия Cs-137

ГОСТ 32164-2013 Продукты пищевые. Метод отбора проб для определения стронция Sr-90 и цезия Cs-137

ГОСТ 32308-2013 Мясо и мясные продукты. Определение содержания хлорорганических пестицидов методом газовой хроматографии

ГОСТ OIML R 76-1-2011 ГСИ. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

П р и м е ч а н и е – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов на территории государства по соответствующему указателю стандартов, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом, следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылоч-

ГОСТ (проект, *RU*, первая редакция)

ный 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 применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 животный белок: Сухой белоксодержащий продукт, состоящий преимущественно из белковых веществ, полученных в результате переработки коллагенсодержащего мясного сырья и обладающих способностью связывать воду и образовывать гели.

3.2 животный белок высшей категории: Животный белок с массовой долей белка более 90 % в сухом обезжиренном остатке.

3.3 животный белок первой категории: Животный белок с массовой долей белка от 80 % до 90 % сухом обезжиренном остатке.

3.4 животный белок кислый: Животный белок, значение pH 10% раствора которого составляет менее 6,0.

3.5 животный белок нейтральный: Животный белок, значение pH 10% раствора которого составляет от 6,0 до 8,0 включительно.

3.6 животный белок щелочной: Животный белок, значение pH 10% раствора которого составляет более 8,0.

3.7 животный белок стандартный: Животный белок, основная фракция белка которого имеет молекулярную массу от 30 кДа до 70 кДа.

3.8 животный белок высокофункциональный: Животный белок, основная фракция белка которого имеет молекулярную массу более 70 кДа.

4 Классификация

4.1 В зависимости от вида убойных животных животные белки подразделяют на: говяжьи и свиные.

4.2 По массовой доле белка животные белки классифицируют на категории: высшую и первую.

4.3 По значению pH 10 % раствора животные белки подразделяют на кислые, нейтральные и щелочные.

4.4 По молекулярной массе основной фракции белка животные белки классифицируют на стандартные и высокофункциональные.

5 Технические требования

5.1 Животные белки должны соответствовать требованиям [1], [2], настоящего стандарта и вырабатываться по технологической инструкции по производству животных белков, с соблюдением требований, установленных нормативными правовыми актами, действующих на территории государства, принявшего стандарт.

5.2 Характеристики

5.2.1 По органолептическим показателям животные белки должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Наименование показателя	Характеристика и норма для животных белков			
	Высшей категории		Первой категории	
	высокофункциональные	стандартные	высокофункциональные	стандартные
Внешний вид	Сухой продукт однородной консистенции в виде волокнистой массы или сыпучего мелкого порошка или сыпучего порошка, содержащего единичные или агломерированные частицы. Для порошков допускается наличие комочков более крупного размера, рассыпающихся при легком механическом надавливании			
Цвет	От белого до светло-коричневого			
Запах	Свойственный животным белкам, без постороннего запаха и привкуса. Не допускается присутствие гнилостного запаха			

5.2.2 По физико-химическим и функциональным показателям животные белки должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 2.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Т а б л и ц а 2

Наименование показателя	Характеристика и норма для животных белков			
	Высшей категории		Первой категории	
	высокофункциональные	стандартные	высокофункциональные	стандартные
Массовая доля белка в сухом обезжиренном остатке, %, не менее	90,0		80,0	
Массовая доля жира, %, не более	8,0		16,0	
Массовая доля влаги, %, не более	10,0			
Массовая доля коллагена к массе общего белка, %, не менее	98	90	98	90
Молекулярная масса основной фракции белка, кДа, более	70	30	70	30
Массовая доля свободных аминокислот, % к массе общего белка, не более	25,0			
Массовая доля небелкового азота, % к массе общего белка, не более	15,0			
Влагосвязывающая способность, %, не менее	1800	800	1800	800
Гелеобразующая способность, %, не менее	1600	800	1600	800
рН: для кислых для нейтральный для щелочных	менее 6,0 от 6,0 до 8,0 включ. более 8,0			

ГОСТ (проект, *RU*, первая редакция)

5.2.3 Микробиологические показатели животных белков не должны превышать норм, установленных [1], [2] или нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

5.2.4 Содержание токсичных элементов, антибиотиков, пестицидов и радионуклидов в животных белках не должно превышать норм, установленных [1], [2] или нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

5.3 Требования к сырью и материалам

5.3.1 Для производства животных белков применяют коллагенсодержащее сырье, в том числе свиную шкуру, говяжий спилок, жилки и сухожилия, тримминг с высоким содержанием соединительной ткани и др., за исключением кости, полученные при переработке убойных животных, а также при разделке говядины по ГОСТ 779*, ГОСТ 31797 и свинины по ГОСТ 31476, ГОСТ 31778.

5.3.2 Используемое при производстве животных белков сырье животного происхождения подлежит ветеринарно-санитарной экспертизе и должно соответствовать требованиям [1] и [2], а также соответствовать требованиям, установленным на территории государства, принявшего стандарт.

5.4 Маркировка

5.4.1 Маркировка потребительской упаковки – по [1], [3], или нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт, с указанием следующей дополнительной информации:

- наименование продукта с указанием вида животного белка (по п. 4.1), категории (по п.4.2), кислотности (по п. 4.3) и функциональности (по пункт 4.4);
- обозначение настоящего стандарта.

Состав продукта не указывается.

Пример маркировки: **«Животный белок свиной высшей категории, нейтральный, высокофункциональный»**

5.4.2 Маркировка транспортной упаковки – по [1], [3], или нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт, ГОСТ 14192 с нанесением манипуляционных знаков: «Ограничение температуры», «Беречь от влаги».

* На территории РФ действует ГОСТ Р 54315

ГОСТ (проект, *RU*, первая редакция)

5.4.3 Маркировка животных белков, отправляемого в районы Крайнего Севера и приравненные к ним местности, — по ГОСТ 15846.

5.5 Упаковка

5.5.1 Потребительская и транспортная упаковка, упаковочные материалы и скрепляющие средства должны соответствовать требованиям [4] или нормативным правовым актам, действующим на территории государства, принявшего стандарт, обеспечивать сохранность и качество животных белков при транспортировании и хранении в течение всего срока годности.

5.5.2 Животные белки упаковывают в пакеты из полиэтиленовой пленки по ГОСТ 10354, в пакеты из многослойных, комбинированных металлизированных (фольгированных) пленочных материалов или в мешки-вкладыши из полимерных материалов, затем в бумажные мешки или мешки из комбинированного материала.

Верхнюю часть пакета (мешка-вкладыша) укупоривают путем сваривания шва, обеспечивающего герметичность упаковки.

Допускается упаковывать сухие продукты в банки из белой жести по ГОСТ 5981. На дно и под крышку нелакированной банки должен быть положен кружок из пергаментной бумаги марки А по ГОСТ 1341. Банки упаковывают в ящики из гофрированного картона по ГОСТ 9142 или в термоусадочную пленку по ГОСТ 25951. Ящики обвязывают металлической лентой по ГОСТ 3560 или оклеивают клеевой лентой на бумажной основе по ГОСТ 18251, или полиэтиленовой лентой с липким слоем по ГОСТ 20477.

5.5.3 Животные белки в потребительской упаковке помещают в транспортную упаковку – ящики из гофрированного картона по ГОСТ 13513, полимерные многооборотные ящики, алюминиевые, контейнеры или тару-оборудование.

5.5.5 Допускается использовать другие виды упаковки, соответствующие требованиям, изложенным в 5.5.1.

5.5.6 В каждую единицу транспортной упаковки упаковывают животные белки одного наименования, одной даты выработки и одного вида упаковки.

Допускается упаковка одного вида нескольких наименований животных белков в один ящик, контейнер или тару-оборудование по согласованию с заказчиком.

5.5.7 Масса нетто животных белков в одной потребительской упаковочной единице должна соответствовать номинальной, указанной в маркировке продукта в потребительской упаковке, с учетом допустимых отклонений.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Пределы допускаемых отрицательных отклонений массы нетто одной упаковочной единицы от номинальной – по ГОСТ 8.579.

5.5.8 Масса нетто животных белков в ящиках из гофрированного картона должна быть не более 20 кг, в контейнерах и таре-оборудовании - не более 250 кг; масса брутто продукции в многооборотной таре - не более 30 кг.

5.5.9 Упаковка животных белков, отправляемых в районы Крайнего Севера и приравненные к ним местности, — по ГОСТ 15846.

6 Правила приемки

6.1 Правила приемки по ГОСТ 18321 и настоящему стандарту.

6.2 Продукты принимают партиями.

Партией считают определенное количество продукции одного наименования, одинаково упакованной, произведенной (изготовленной) одним изготовителем в определенный промежуток времени, сопровождаемое товаросопроводительной документацией, обеспечивающей прослеживаемость продукции.

6.3 При отрицательных результатах испытаний хотя бы по одному показателю качества партия приемке не подлежит.

6.4 Органолептические показатели животных белков определяют в каждой партии.

6.5 Порядок и периодичность контроля физико-химических показателей, микробиологических показателей, содержания токсичных элементов, антибиотиков, пестицидов и радионуклидов устанавливает изготовитель продукции в программе производственного контроля.

6.6 Контроль на наличие генетически модифицированных источников осуществляют по требованию контролирующей организации или потребителя.

7 Методы контроля

7.1 Отбор проб – по ГОСТ 31904, ГОСТ 32164.

7.2 Подготовка проб для определения токсичных элементов – по ГОСТ 26929, ГОСТ 31671.

7.3 Подготовка проб к микробиологическим исследованиям по – ГОСТ 26669, ГОСТ 26670.

Общие требования проведения микробиологического контроля – по ГОСТ ISO 7218.

7.4 Определение органолептических показателей.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Внешний вид и цвет животных белков определяют следующим образом: около 50 г пробы рассыпают на чистый лист белой бумаги и подвергают визуальному осмотру.

Соответствие внешнего вида, запаха и цвета животных белков требованиям, представленным в таблице 1, определяют органолептически. Помещение, в котором проводят органолептические испытания, а также посуда, используемая при испытаниях, должны быть без посторонних запахов. Освещенность рабочих мест должна быть не менее 500 лм рассеянным светом или светом люминесцентных ламп.

7.5 Определение физико-химических показателей:

7.5.1 Определение массовой доли влаги. Метод основан на высушивании навески пробы с песком до постоянной массы при температуре $(103\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

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 г.

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

7.5.1.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование и материалы

Весы аналитические с допускаемой погрешностью взвешивания не более $\pm 0,001$ г по ГОСТ OIMLR 76-1.

Шкаф сушильный, способный поддерживать температуру $(103\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

Эксикатор по ГОСТ 25336, содержащий эффективный осушитель.

Бюксы металлические.

Стаканчики СН-45/13 или СН-60/14 по ГОСТ 25336.

Эксикатор по ГОСТ 25336, содержащий эффективный осушитель.

7.5.1.2 Проведение испытаний

Бюксу (стаканчик) высушивают не менее 30 мин в сушильном шкафу при температуре $(103\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

Бюксу (стаканчик) охлаждают в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивают с записью результата взвешивания до третьего десятичного знака.

В бюксу (стаканчик) помещают 3-5 г пробы и взвешивают с записью результата взвешивания до третьего десятичного знака.

Бюксу (стаканчик) помещают в сушильный шкаф и выдерживают при температуре $(103\pm 2)^{\circ}\text{C}$ в течение 1 ч.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

После этого бюксу (стаканчик) охлаждают в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивают с записью результата взвешивания до третьего десятичного знака.

Бюксу (стаканчик) повторно помещают в сушильный шкаф и выдерживают при температуре (103 ± 2) °С в течение 1 ч., затем охлаждают в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивают с записью результата взвешивания до третьего десятичного знака.

Высушивание продолжают до постоянной массы, пока расхождение между результатами двух последовательных взвешиваний после повторного высушивания не достигнет 0,1% массы навески.

7.5.1.3 Обработка результатов

Массовую долю влаги, X , выраженную в %, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m_1 - m}, \quad (1)$$

где m_1 – масса бюксы (стаканчика) с навеской пробы перед высушиванием, г;

m_2 – масса бюксы (стаканчика) с навеской пробы после высушивания, г;

100 – коэффициент пересчета в проценты;

m – масса бюксы (стаканчика), г.

Вычисление проводят до второго десятичного знака.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений, округленное до первого десятичного знака, если удовлетворяются условия повторяемости (сходимости).

Точность метода установлена межлабораторными испытаниями, выполненными в соответствии с требованиями [5].

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности $P=0,95$, приведены в таблице 3.

Т а б л и ц а 3

Наименование определяемого показателя	Показатели точности			
	Диапазон измерений массовой доли, %	Границы относительной погрешности $\pm\delta$, %	Предел повторяемости (сходимости), r , %	Предел воспроизводимости, R , %
Массовая доля влаги	от 1,0 до 20,0 вкл.	15	$0,10 x_{cp}$	$0,25 X_{cp}$

x_{cp} – среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, (%);
 X_{cp} – среднее арифметическое 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, не должно превышать предела повторяемости (сходимости) r , значения которого приведены в таблице 3.

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

где x_1 и x_2 – результаты двух параллельных измерений, %;

r – предел повторяемости, %.

Расхождение между результатами двух определений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R , значения которого приведены в таблице 3.

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

где X_1 и X_2 – результаты двух определений, выполненных в разных лабораториях, %;

R – предел воспроизводимости, %.

Границы относительной погрешности, результата измерений ($\pm\delta$) $P=0,95$, при соблюдении условий настоящего стандарта, не должны превышать значений, приведенных в таблице 3.

7.5.2 Определение содержания азота.

Метод основан на сжигании навески с концентрированной серной кислотой при использовании катализатора – сульфата меди (II) с целью превращения органического азота в ионы аммония, подщелачивании, дистилляции высвободившегося аммиака.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

ка в избыточный раствор борной кислоты, титровании соляной кислотой для определения количества аммиака, связанного борной кислотой, и расчете массовой доли азота в пробе продукта, исходя из количества образовавшегося аммиака.

7.5.2.1 Реактивы

Все используемые реактивы должны быть аналитического качества (не ниже х.ч.). Используемая вода должна быть дистиллированной или эквивалентной чистоты.

Сульфат меди (II), пентагидрат ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) (медь (II) сернокислая 5-водная) по ГОСТ 4165.

Сульфат калия (K_2SO_4) (калий сернокислый по ГОСТ 4145), безводный.

Кислота серная по ГОСТ 4204, ρ_{20} 1,84 г/дм³.

Натрия гидроксид по ГОСТ 4328, раствор с массовой долей 33 г гидроксида натрия, 33 г гидроксида натрия (NaOH) на 100 г раствора, не содержащий карбонат.

Растворяют 500 г гидроксида натрия в 1000 см³ воды.

Кислота борная по ГОСТ 9656, раствор массовой концентрацией 40 г/дм³.

Растворяют 40 г борной кислоты (H_3BO_3) в воде и доводят объем до 1000 см³.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, стандартный титрованный раствор концентрацией 0,1 моль/дм³.

Индикаторный раствор (индикатор Таширо).

Смесь индикаторов (метилловый красный; метиленовый голубой), приготовленная растворением 2 г метилового красного и 1 г метиленового голубого в 1000 см³ 95 %-ного (V/V) этанола.

Изменение окраски индикаторного раствора происходит при pH 5,4.

Хранят индикаторный раствор в коричневой склянке в темном прохладном месте.

Регуляторы кипения:

-для минерализации.

Стеклянные шарики, карбид кремния и осколки твердого фарфора.

-для дистилляции.

Карбид кремния или свежепрокаленные кусочки пемзы.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода для лабораторного анализа.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962

7.5.2.2 Аппаратура

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Аппарат для дистилляции (перегонки паром) ручного или полуавтоматического или автоматического действия, зарегистрированный в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений.

Колба Кьельдаля по ГОСТ 25336, вместимостью не более 800 см³, оснащенная, если это необходимо, грушевидным стеклянным конусом, свободно помещенным на горлышке колбы.

Прибор для паровой дистилляции или обычный аппарат для дистилляции.

Приспособление для нагрева, на котором можно нагревать колбу Кьельдаля в наклонном положении таким образом, чтобы пламя касалось только той части стенки колбы, которая находится ниже уровня жидкости.

При нагревании газом подходящим приспособлением является асбестовая пластина с круглым отверстием, так что свободное пламя воздействует только на самую нижнюю часть колбы.

Приспособление для отсасывания кислых паров, которые выделяются при минерализации (вытяжной рукав).

Весы аналитические с допускаемой погрешностью взвешивания не более $\pm 0,0001$ г по ГОСТ OIMLR 76-1.

Колбы конические по ГОСТ 25336, вместимостью 250, 500 и 1000 см³.

Цилиндры мерные по ГОСТ 1770, вместимостью 50 и 100 см³.

Бюретка по ГОСТ 29251, вместимостью 50 см³, с ценой деления 0,1 см³.

Термометр ТТП 4 1 106 66

7.5.3.3 Порядок проведения испытаний

Определение необходимо проводить в лаборатории, свободной от паров аммиака.

В колбу Кьельдаля помещают несколько регуляторов кипения, затем добавляют примерно 15 г безводного сульфата калия и 0,5 г сульфата меди (II).

Пробу взвешивают 0,1-0,4 г с точностью до 0,0001 г и помещают в колбу Кьельдаля.

В колбу Кьельдаля добавляют 25 см³ серной кислоты.

Колбу помещают в наклонном положении (под углом около 40° от вертикального положения) на нагревательное устройство. Сначала колбу слегка нагревают до окончания пенообразования и до полной минерализации содержимого. Затем продолжают минерализацию при энергичном кипении, до тех пор, пока жидкость не станет абсолютно прозрачной или не приобретет светлую зелено-голубую окраску.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Общая продолжительность минерализации должна быть не меньше 2 ч. Следят за тем, чтобы содержимое колбы не попадало на наружную поверхность колбы. Не допускают чрезмерного улетучивания серной кислоты в результате перегрева во время минерализации, так как это может вызвать потерю азота.

Охлаждают до 40 °С и осторожно добавляют примерно 50 см³ воды. Перемешивают и продолжают охлаждение.

В коническую колбу вместимостью примерно 500 см³ с помощью мерного цилиндра наливают 50 см³ раствора борной кислоты, добавляют 4 капли индикаторного раствора, перемешивают и подсоединяют колбу к холодильнику дистилляционного аппарата таким образом, чтобы выходное отверстие наконечника погрузилось в жидкость.

Содержимое колбы Кьельдаля обрабатывают одним из следующих способов:

а) при паровой дистилляции:

помещают содержимое колбы Кьельдаля в аппарат для дистилляции и промывают колбу примерно 50 см³ воды. Добавляют с помощью мерного цилиндра 100 см³ раствора гидроксида натрия, осторожно наливая вдоль наклонного горлышка колбы таким образом, чтобы два слоя содержимого колбы не перемешивались. Сразу же после этого присоединяют колбу к перегонной насадке дистилляционного аппарата. Нагревают щелочную жидкость, пропуская через нее пар до начала кипения и кипятят в течение 20 мин. Сначала слегка нагревают до небольшого образования пены. Собранное количество дистиллята должно быть не менее 150 см³;

б) при обычной дистилляции:

осторожно разбавляют содержимое колбы Кьельдаля примерно 30 см³ воды и перемешивают, вращая колбу с жидкостью. Если необходимо, переливают все в колбу вместимостью 1000 см³. Примерно через 15 мин добавляют с помощью мерного цилиндра 100 см³ раствора гидроксида натрия, осторожно наливая вдоль наклонного горлышка колбы таким образом, чтобы два слоя содержимого колбы не перемешивались. Сразу же после этого присоединяют колбу к перегонной насадке дистилляционного аппарата.

Перегоняют примерно 150 см³ жидкости, даже если смесь иногда вскипает. Продолжают дистилляцию до тех пор, пока смесь не начнет иногда вскипать, или до тех пор, пока не будет собрано 250 см³ дистиллята. Необходимо проверить, достаточно ли охлажден дистиллят, и не допускать нагревания раствора борной кислоты.

В любом случае опускают коническую приемную колбу до завершения дистилляции таким образом, чтобы выходное отверстие наконечника располагалось над

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

уровнем жидкости. Промывают выходное отверстие наконечника небольшим количеством воды. Проверяют окончание дистилляции аммиака с помощью красной лакмусовой бумажки, смоченной дистиллированной водой: ее цвет не должен изменяться под влиянием капель из конденсатора. Нагревание прекращают. Если дистилляция еще не завершена, проводят повторное определение, тщательно выполняя методические указания.

Оттитровывают содержимое конической приемной колбы раствором соляной кислоты. Объем соляной кислоты, используемый на титрование, определяют с точностью до 0,02 см³.

Проводят два параллельных определения одной и той же пробы.

Проводят контрольный опыт (дважды), при использовании свежей партии реактивов или свежеприготовленных растворов. Рекомендуется проводить контрольный опыт обычно для реактивов и растворов, которые уже были использованы в течение какого-то времени.

Возможно проведение определения азота на аппаратах для дистилляции (перегонки паром) ручного, полуавтоматического или автоматического действия, зарегистрированных в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений согласно инструкции по их эксплуатации.

7.5.3.4 Обработка результатов

Массовую долю азота, X, в процентах от массы продукта, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{0,0014 * (V_1 - V_0) * 100 * K}{m}, \quad (4)$$

где V_0 – объем 0,1 моль/дм³ раствора соляной кислоты, израсходованный на титрование при исследовании контрольной пробы, см³;

V_1 – объем 0,1 моль/дм³ раствора соляной кислоты, израсходованный на титрование исследуемой пробы, см³;

m – масса навески, г,

0,0014 – количество азота, эквивалентное 1 см³ 0,1 моль/дм³ раствора кислоты;

K – поправочный коэффициент к концентрации 0,1 моль/дм³ раствора соляной кислоты (определяют в соответствии с ГОСТ 25794.1).

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений, если удовлетворяются условия повторяемости (сходимости).

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности $P=0,95$, приведены в таблице 4.

Т а б л и ц а 4

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой доли, %	Предел повторяемости (сходимости), r , %	Предел воспроизводимости, R , %	Границы относительной погрешности, $\pm \delta$, %
Массовая доля азота, %	От 6,0 до 17,5	$0,08x_{cp}$	$0,16X_{cp}$	5

x_{cp} –среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, (%);
 X_{cp} – среднее арифметическое результатов двух определений, выполненных в разных лабораториях, (%).

Расхождение между результатами двух определений, выполненных почти одновременно или с небольшим промежутком времени одним и тем же оператором, в одной и той же лаборатории, с использованием одного и того же оборудования в условиях повторяемости не должно превышать предела повторяемости (сходимости) r , значения которого приведены в таблице 4.

$$|x_1 - x_2| \leq r, \quad (5)$$

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 4.

$$|X_1 - X_2| \leq R, \quad (6)$$

где X_1 и X_2 – результаты двух определений, выполненных в разных лабораториях, %;

R – предел воспроизводимости, %.

Границы относительной погрешности (δ), при доверительной вероятности $P=0,95$, при соблюдении условий настоящего стандарта не должны превышать значений, приведенных в таблице 4.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Содержание белка X_1 , %, вычисляют по формуле:

$$X_1 = K \cdot X \quad (7)$$

где X_1 - содержание азота найденное по формуле (4), %;

K - коэффициент пересчета содержания азота на белок, равный:

-6,25 для мясного белка;

-5,62 для коллагенового белка.

Содержание белка в пересчете на сухое вещество X_2 , вычисляют по формуле:

$$X_2 = X_1 \cdot 100 / (100 - W) \quad (8)$$

где X_1 - содержание белка найденное по формуле (7), %;

W - влажность белка, %.

7.5.3 Определение массовой доли коллагена

Метод основан на выделении оксипролина в кислотном гидролизате пробы, нейтрализации гидролизата, окислении его хлорамином Т, с образованием соединения красного цвета и фотометрическом измерении оптической плотности при длине волны 558 нм и последующем пересчете на коллаген.

7.5.3.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры на уровне 60 °С.

Баня песчаная.

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

Весы лабораторные по ГОСТ OIMLR 76-1 специального (1) класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ±0,001 г.

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.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Часы электронно-механические по ГОСТ 26272.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

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.

Термометр ртутный по ГОСТ 215.

Бумага индикаторная универсальная, интервал 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 изо-пропиловый, х.ч.

Оксипролин, с массовой долей основного вещества

7.5.3.2 Подготовка к испытанию

7.5.3.2.1 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации с $(\text{HCl}) = 6 \text{ моль/дм}^3$.

Смешивают 1 объем соляной кислоты ($\rho_{20} = 1,198 \text{ г/см}^3$) с 1 объемом дистиллированной воды.

7.5.3.2.2 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации с $(\text{NaOH}) = 10 \text{ моль/дм}^3$.

Растворяют 400 г гидроокиси натрия 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.

7.5.3.2.3 Приготовление буферного раствора (pH 6,0)

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 изо-пропилового спирта. Проводят измерение pH полученного раствора на pH-метре, в

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

случае необходимости доводят рН до 6,0 раствором гидроокиси натрия или уксусной кислотой.

7.5.3.2.4 Приготовление реактива для окисления

1,41 г хлорамина-Т или хлорамина Б растворяют в 10 см³ дистиллированной воды, добавляют 10 см³ пропилового или изопропилового спирта и 80 см³ буферного раствора. Раствор готовят в день использования.

7.5.3.2.5 Приготовление цветного реактива

10 парадиметилбензальдегида растворяют в 35 см³ хлорной кислоты непрерывно перемешивая. Полученный раствор смешивают с 65 см³ пропилового или изопропилового спирта. Раствор готовят в день использования.

7.5.3.2.6 Приготовление основного раствора оксипролина массовой концентрации с ($C_5H_9NO_3$) = 1 г/дм³

100 мг оксипролина растворяют в мерной колбе вместимостью 100 см³ дистиллированной водой, добавляют 1 каплю раствора соляной кислоты, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

7.5.3.2.7 Приготовление рабочего раствора оксипролина массовой концентрации с ($C_5H_9NO_3$) = 0,01 мг/см³

1 см³ основного раствора растворяют в мерной колбе вместимостью 100 см³ дистиллированной водой, доводят до метки и перемешивают. Раствор готовят перед использованием.

7.5.3.2.8 Приготовление градуировочных растворов оксипролина.

В мерные колбы вместимостью 100 см³ вносят 5, 10, 20, 30 см³ рабочего раствора оксипролина. Доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Полученные градуировочные растворы, содержат 0,5; 1; 2; и 3 мкг/см³ оксипролина соответственно.

7.5.3.3 Построение градуировочного графика

В пробирки вносят по 4 см³ каждого стандартного раствора оксипролина, добавляют 2 см³ реактива для окисления, выдерживают 20 мин при комнатной температуре. Затем добавляют 2 см³ цветного реактива, перемешивают, закрывают пробирку алюминиевой фольгой и помещают на водяную баню с температурой (60 ± 0,5)⁰С и выдерживают 15 мин. Одновременно готовят два контрольных раствора, используя вместо гидролизата дистиллированную воду.

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

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

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

Строят градуировочный график, откладывая измеренные значения оптической плотности против соответствующих концентраций разбавленных стандартных растворов оксипролина и проводя прямую линию через отложенные точки и начало координат.

7.5.3.4 Проведение испытаний

В коническую колбу, вместимостью 250 см^3 помещают 0,3-1,0 г пробы, взвешенной с точностью до четвертого десятичного знака и добавляют 100 см^3 соляной кислоты молярной концентрации $c(\text{HCl}) = 6 \text{ моль/дм}^3$.

Гидролиз навески проводят на песчаной бане, соединив коническую колбу с холодильником в течение 8 часов.

Полученный теплый гидролизат, фильтруют через бумажный фильтр, используя воронку в мерную колбу вместимостью 250 см^3 , промывая коническую колбу и фильтр дистиллированной водой температурой $(60-70)^\circ\text{C}$. Содержимое колбы охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

$0,5-1,0 \text{ см}^3$ гидролизата (в зависимости от предполагаемого содержания оксипролина в пробе) вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 , добавляют $50 - 60 \text{ см}^3$ дистиллированной воды и нейтрализуют раствором гидроксида натрия до $\text{pH}=6,0$ по индикаторной бумаге. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

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 $(60 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и выдерживают 15 мин. Одновременно готовят два контрольных раствора, используя вместо гидролизата дистиллированную воду.

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

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

По градуировочному графику находят концентрацию оксипролина в растворе образца.

ГОСТ (проект, *RU*, первая редакция)

Для проверки выполнения условий повторяемости (сходимости) проводят два единичных определения.

7.5.3.5 Обработка результатов

Массовую долю оксипролина, X , выраженную в %, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \times 250 \times 100 \times 100}{m \times V \times 10^6} \quad (9)$$

где C - концентрация оксипролина в растворе образца, найденная по градуировочному графику, мкг/см³,

250 – объем гидролизата см³;

100 – объем раствора, полученный после разбавления гидролизата, см³;

100 – коэффициент пересчета в проценты;

m - масса навески, г;

V - объем гидролизата отобранный для нейтрализации, см³;

10⁶ – коэффициент пересчета мкг в г.

Вычисление проводят до четвертого десятичного знака.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений, округленное до третьего десятичного знака, если удовлетворяются условия повторяемости (сходимости). Удовлетворение данных условий следует относить только к мясу.

7.5.3.6 Контроль точности метода

Точность метода установлена межлабораторными испытаниями, выполненными в соответствии с требованиями [5].

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности $P=0,95$, приведены в таблице 5.

Т а б л и ц а 5

Наименование определяемого показателя	Показатели точности			
	Диапазон измерений массовой доли, %	Границы относительной погрешности, $\pm\delta$, %	Предел повторяемости (сходимости) r , %	Предел воспроизводимости, R , %
Массовая доля оксипролина	от 0,100 до 0,480 вкл.	15	0,10 x_{cp}	0,25 X_{cp}
	св. 0,480 до 1,600 вкл.	8	0,05 x_{cp}	0,1 X_{cp}
x_{cp} – среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, (%); X_{cp} – среднее арифметическое 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 5.

$$|x_1 - x_2| \leq r, \quad (10)$$

где x_1 и x_2 – результаты двух параллельных измерений, %;

r – предел повторяемости, %.

Расхождение между результатами двух определений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R , значения которого приведены в таблице 3.

$$|X_1 - X_2| \leq R, \quad (11)$$

где X_1 и X_2 – результаты двух определений, выполненных в разных лабораториях, %;

R – предел воспроизводимости, %.

Границы относительной погрешности, результата измерений ($\pm\delta$) $P=0,95$, при соблюдении условий настоящего стандарта, не должны превышать значений, приведенных в таблице 5.

Содержание коллагена X_3 , %, вычисляют по формуле:

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

$$X_3 = X \cdot K \quad (12)$$

где X_3 - содержание оксипролина найденное по формуле (9), %;

K- коэффициент пересчета содержания оксипролина на коллаген, равный 8,07.

7.5.4 Определение массовой доли жира с использованием экстракционного аппарата Сокслета.

Метод Сокслета основан на многократной экстракции жира растворителем из высушенной навески исследуемой пробы с последующим удалением, с помощью отгонки, растворителя и на высушивании выделенного жира до постоянной массы.

7.5.4.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Баня водяная, обеспечивающая регулирование температуры.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Весы лабораторные по ГОСТ OIMLR 76-1 специального (1) класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более $\pm 0,0001$ г.

Эксикатор по ГОСТ 25336, содержащий эффективный осушитель.

Шкаф сушильный, способный поддерживать температуру (103 ± 2) °С.

Стекло часовое.

Чашка Петри.

Вата по ГОСТ 5556.

Аппарат Сокслета.

Колбонагреватель лабораторный.

Диэтиловый эфир, х.ч.

Петролейный эфир, х.ч.

7.5.4.2 Проведение испытаний

Около 5 г подготовленной пробы взвешивают с записью результата взвешивания до четвертого десятичного знака.

Навеску пробы высушивают на часовом стекле или в чашке Петри в сушильном шкафу при температуре (103 ± 2) °С в течение 1 ч (допускается использовать навеску пробы, оставшуюся после определения влаги).

Высушенную навеску количественно переносят в гильзу, сделанную из фильтровальной бумаги, на дно которой положен кусочек ваты.

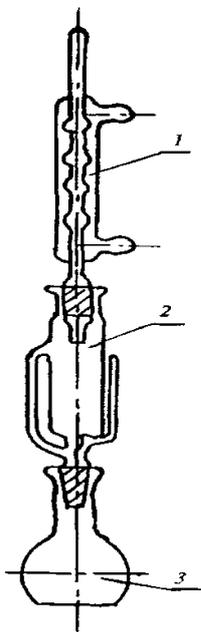
Часовое стекло или чашку Петри протирают ватой, смоченной в растворителе (диэтиловом или петролейном эфире), которую так же помещают в гильзу.

Гильзу тщательно закрывают и помещают в экстрактор аппарата Сокслета.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Предварительно высушенную до постоянной массы приемную колбу аппарата Сокслета заполняют растворителем (диэтиловым или петролевым эфиром) примерно на 2/3 от объема колбы.

Собирают аппарат Сокслета как показано на рисунке 1.



1- холодильник; 2- экстрактор; 3- приемная колба; 4- сифонная трубка

Рисунок 1 - Экстракционный аппарат Сокслета

Приемную колбу помещают в колбонагреватель или на водяную баню. Продолжительность экстракции составляет от 5 до 7 часов при кратности сливов растворителя 5-8 в течение 1 ч. Полноту обезжиривания проверяют, нанося на фильтровальную бумагу каплю растворителя, стекающего из экстрактора. После окончания экстрагирования, растворитель из приемной колбы отгоняют. Приемную колбу, с оставшимся после экстракции жиром, высушивают в сушильном шкафу при температуре $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$ до постоянной массы.

Для проверки выполнения условий повторяемости (сходимости) проводят два единичных определения в соответствии.

7.5.4.3 Обработка результатов

Массовую долю жира, X, выраженную в % вычисляют по формуле

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m}, \quad (13)$$

где m_2 – масса колбы с жиром, г;

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

m_1 – масса колбы, г;

100 - коэффициент пересчета в проценты;

m - масса навески.

Вычисление проводят до второго десятичного знака.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений, округленное до первого десятичного знака, если удовлетворяются условия повторяемости (сходимости).

7.5.4.4 Метрологические характеристики

Точность метода установлена межлабораторными испытаниями выполненными в соответствии с требованиями [5].

Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности $P=0,95$, приведены в таблице 6.

Т а б л и ц а 6

Наименование определяемого показателя	Показатели точности			
	Диапазон измерений массовой доли, %	Границы относительной погрешности, $\pm\delta$, %	Предел повторяемости (сходимости), r , %	Предел воспроизводимости, R , %
Массовая доля жира (метод Сокслета)	от 0,2 до 15 вкл.	15	0,10 x_{cp}	0,25 x_{cp}

x_{cp} -среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, (%);
 X_{cp} – среднее арифметическое 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 6.

$$|x_1 - x_2| \leq r, \quad (14)$$

где x_1 и x_2 – результаты двух параллельных измерений, %;

r – предел повторяемости, %.

ГОСТ (проект, *RU*, первая редакция)

Расхождение между результатами двух определений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R , значения которого приведены в таблице 6.

$$|X_1 - X_2| \leq R, \quad (15)$$

где X_1 и X_2 – результаты двух определений, выполненных в разных лабораториях, %;

R – предел воспроизводимости, %.

Границы относительной погрешности, результата измерений ($\pm\delta$) $P=0,95$, при соблюдении условий настоящего стандарта, не должны превышать значений, приведенных в таблице 6.

7.5.6 Определение молекулярной массы основной фракции белка.

Метод основан на определении фракционного состава белков путем их разделения в полиакриламидном геле, основанный на явлении миграции заряженных молекул, под действием внешнего электрического поля. Для денатурации белков используют кипячение пробы в буфере, содержащем сильный ионный детергент – додецилсульфат натрия и бета-меркаптоэтанол, разрушающий четвертичную структуру белка, благодаря разрушению дисульфидных мостиков между глобулами белка, а также внутри полипептидной цепи.

7.5.6.1 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха не менее, $^{\circ}\text{C}$ 25 ± 5 ;
- относительная влажность воздуха, % не более 80;
- атмосферное давление, кПа $84-106,7$;
- напряжение переменного тока, В 220 ± 20 ;
- частота переменного тока, Гц 50 ± 1 .

7.5.6.2 Подготовка проб

Навеску пробы массой 0,1 г, взвешенной с точностью до 0,001 г, помещают в эппендорф, вместимостью 1,5 см³. Добавляют 1000 мкл буфера для растворения белковых проб.

После чего, эппендорф ставят на термо-шейкер при температуре 95 $^{\circ}\text{C}$ в течение 5 мин, при 350 об/мин. Полученную суспензию центрифугируют на центрифуге при 7 тыс. об/мин, 10 минут. После центрифугирования, надосадов осторожно отби-

ГОСТ (проект, *RU*, первая редакция)

рают дозатором и переносят в эппендорф. Полученный раствор используют для дальнейшего анализа.

7.5.6.3 Проведение измерений

Фракционирование белка проводят по ГОСТ Р 53220 (раздел 7.1 и 8.1).

7.5.6.4 Обработка результатов

Для обработки результатов, полученный полиакриламидный гель, помещают в денситометр (сканирующую гель-документирующую систему), и с помощью специализированного программного обеспечения проводят идентификации белковых полос.

Качественная идентификация пищевых белков осуществляется визуально. Полученные результаты в виде линий на электрофореграмме сопоставляют с линиями стандартных образцов с заведомо известными молекулярными массами.

Количественную обработку электрофореграммы проводят в денситометре в соответствии с инструкцией к прибору. Денситометрия белковых полос позволяет провести количественную оценку состава белка в процентах, вследствие чего, степень протеолиза определяют как относительное количество расщепленного белка, выраженное в процентах.

При сканировании гелей в камере денситометра учитывается интенсивность окрашивания белковых фракций (полос).

Интенсивность – показывает степень окрашивания по сравнению с фоном; при этом берется значение наиболее сильно окрашенных пикселей полос и наиболее светлой области ближайшего фона, окружающего их.

7.5.7 Определение содержания свободных аминокислот в мясе и мясных продуктах

Содержание свободных аминокислот определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной дериватизацией ортофталевым альдегидом (OPA-реагент) (для первичных аминокислот) или с 9-метилхлорформилфлуореном (FMOC-реагент) (для вторичных аминокислот) в ультрафиолетовой (УФ) области спектра. Детектирование производных осуществляется фотометрически при длине волны 338 нм и 262 нм (для первичных и вторичных аминокислот, соответственно). Идентификацию целевого вещества осуществляют по абсолютному времени удерживания, количественное содержание определяют по площади хроматографического пика анализируемого образца, сопоставляя с пиком стандартного образца с заведомо известной концентрацией.

7.5.7.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Высокоэффективный жидкостной хроматограф, укомплектованный:

- детектором УФ, обеспечивающим измерения при длине волны 338 и 262 нм, с относительной погрешностью спектрофотометрического определения не более 2 %;
- хроматографической колонкой для ВЭЖХ длиной около 200 мм и диаметром порядка 4,6–150 мм с обращенной фазой C18 размером частиц не менее 3,5 мкм;
- блоком термостатирования колонок с поддержанием температуры 40 °С с точностью $\pm 0,1$ °С;
- записывающим устройством с компьютерным управлением и автоматической программой обработки хроматографических данных в соответствии с комплектацией хроматографа.

Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1 специального (I) класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более $\pm 0,001$ г.

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025 или электромясорубка бытовая по ГОСТ 20469.

pH-метр по ГОСТ 9245 со стеклянным и хлорсеребряным электродами (или комбинированным стеклянным электродом) с диапазоном измерений от 0 до 14 ед.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Центрифуга лабораторная, с центробежным ускорением 6000 g.

Дозатор пипеточный переменного объема дозирования 0,200 - 1,000 см³ с относительной погрешностью дозирования ± 1 %

Колбы 2-50-2, 2-100-2 2-1000-2 по ГОСТ 1770

Центрифужные пробирки по ГОСТ 25336

Воронки стеклянные ВД-1-100 ХС по ГОСТ 25336

Дозатор на 200 мкл с разовыми наконечниками по ТУ 64-1-3329-81

Фильтр мембранный из политетрафторэтилена с диаметром пор 0,45 мкм

Флаконы – виалы хроматографические вместимостью 2,0 см³.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Буфер цитратный, pH=2.2

Реагент для дериватизации ортофталевый альдегид с массовой долей основного вещества не менее 99 %

Реагент для дериватизации 9-метилхлорформиатфлуорен с массовой долей основного вещества не менее 99 %

Ацетонитрил для ВЭЖХ

Метанол (элюэнт) для ВЭЖХ

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Стандарты L- аминокислот с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %

Тетраборат натрия с массовой долей основного вещества не менее 99 %

Дигидрофосфат натрия с массовой долей основного вещества не менее 99 %

2 – Меркаптоэтанол с массовой долей основного вещества не менее 95,0 %

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.

Кислота борная по ГОСТ 18704, х. ч.

Спирт этиловый ректифицированный по ГОСТ 51652

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328

Натрий лимоннокислый трехзамещенный по ГОСТ

Хлороформ (трихлорметан) хч по ТУ 6-09-4263-76

Фенол по ГОСТ 23519

7.5.7.2 Приготовление растворов

7.5.7.2.1 Приготовление градуировочных растворов аминокислот.

Для построения калибровочного графика используют готовые стандартные смеси аминокислот с известной концентрацией.

7.5.7.2.2 Приготовление подвижной фазы А

В мерный стакан вместимостью 1000 см³ помещают 1,419 ± 0,02 г дигидрофосфата натрия и 2,01±0,01 г тетрабората натрия. Затем их растворяют в 750 мл деионизованной воды, доводят концентрированной серной кислотой рН до 8,2±0,1 и разбавляют до 1000 см³.

7.5.7.2.3 Приготовление подвижной фазы В

В мерный стакан вместимостью 1000 см³ добавляют ацетонитрил, метанол и воду в соотношении 45:45:10, в зависимости от объема.

7.5.7.2.4 Приготовление боратного буфера

В химическом стакане на 100 см³ растворяют 2,47±0,02 г борной кислоты в 90 мл бидистиллированной воды. Доводят рН гидроксидом натрия или калия до 9,5±0,1 и доливают раствор до 100 см³.

7.5.7.2.5 Приготовление ОРА-реагента

В химическом стакане на 50 см³ растворяют 0,027±0,001 г ортофталевого альдегида в 500 мм³ этилового спирта. Затем добавляют 40 мм³ 2-меркаптоэтанола и доводят объем боратным буфером до 5 см³.

7.5.7.2.6 Приготовление FМОС-реагента

В химическом стакане на 50 см³ растворяют 0,05±0,01 г 9-метилхлорформиатфлурена в 10 см³ ацетонитрила.

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

7.5.7.2.6 Приготовление буферного раствора с рН 2,2

В мерном стакане вместимостью 1000 см³ растворяют 19,6±0,1 г цитрата натрия в 300 см³ деионизованной воды. Затем приливают 16,6 см³ концентрированной соляной кислоты, 1 см³ фенола и объем доводят деионизованной воды до 1000 см³. Корректировку рН проводят по необходимости концентрированной соляной кислотой.

7.5.7.3 Подготовка пробы

5 г образца последовательно растирают в ступке с 50, 25 и 15 мл 96 %-ного этанола, разделяя осадок и надосадочную жидкость на центрифуге (6000 об/мин, 15 мин, G = 60). Экстракцию растертого мяса повторяют последовательно 80 % и 50 % водным этанолом. Отделенные центрифугированием водно-спиртовые экстракты от всех экстракций объединяют и подвергают троекратному экстрагированию (1:5) хлороформом. Хлороформный слой, содержащий спирт, отбрасывают. Водную вытяжку упаривают в вакууме на роторном испарителе досуха. Растворяют сухой остаток цитратным буфером в количестве 1 мл и фильтруют через мембранный фильтр. Отбирают 1 мл образца в виалу для последующего аминокислотного анализа, если образец достаточно концентрирован по аминокислотам, то делают разведение образца.

Полученный раствор гидролизата подвергают анализу на аминокислотном анализаторе в соответствии с инструкцией к прибору.

Если нет возможности провести анализ в тот же день, то пробы хранят в холодильнике при температуре 4-6 °С, но не более 3 суток.

7.5.7.4 Градуировка хроматографа

Градуировку хроматографа проводят в соответствии с инструкцией к прибору.

7.5.7.5 Проведение измерений

В две виалы вместимостью 2,0 см³ вносят подготовленную пробу и анализируют на жидкостном хроматографе при условиях указанных в инструкции к прибору.

По значению площади хроматографического пика с использованием градуировочной характеристики и программы обработки данных находят концентрацию аминокислот в анализируемом растворе.

Вычисление массовой доли аминокислот в анализируемой пробе экстракта проводят для каждого из двух параллельных определений по формуле (16).

7.5.7.6 Обработка результатов

В соответствие с данными, полученными при анализе градуировочных (стандартных) растворов, создают таблицу пиков с использованием программного обес-

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

печения. Расчеты содержания соединения и площади пика выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

Массовую долю индивидуальной аминокислоты (X) в мкМ/мл (или в мг/мл, %, условных машинных единицах или мм по высоте пиков) на 100 г продукта, рассчитывают по формуле

$$X = \frac{C_{CT} \cdot S_X \cdot V_P}{S_{CT} \cdot m} \cdot 100, \quad (16)$$

где C_{CT} - массовая концентрация индивидуальной аминокислоты в градуировочном растворе, г/100 см³;

S_X – площадь пика индивидуальной аминокислоты в анализируемой пробе, мAU · с;

S_{CT} – площадь пика индивидуальной аминокислоты в градуировочном растворе, мAU · с;

V_P – объём экстрагирующей смеси, см³;

m – масса навески анализируемого сырья, г.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение двух параллельных измерений, округленное до второго десятичного знака.

7.5.7.7 Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализов в точном соответствии с данной методикой значения погрешности (и ее составляющих) результатов измерений при доверительной вероятности $P=0,95$ не превышают значений, приведенных в таблице 7.

Т а б л и ц а 7

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой доли или массовой концентрации, %	Относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости, $S_{r\text{отн}}$, %	Относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости, $S_{R\text{отн}}$, %	Предел повторяемости (сходимости), $r_{\text{отн}}$, %	Предел воспроизводимости, $R_{\text{отн}}$, %	Границы относительной погрешности, $\pm\delta$, %
Массовая доля аминокислоты, %	до 0,01 вкл.	9	14	22	34	25
	св. 0,01 до 0,5 вкл.	7	12	18	29	20
	св. 0,5 до 5,0 вкл.	3	5	8	14	15

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 7.

Результат анализа при доверительной вероятности $P = 0,95$ представляют в виде

$$|X_1 - X_2| \leq r_{\text{отн}} \times 0,01 \times X_{\text{ср}}, \quad (17)$$

где: X_1 и X_2 – результаты двух параллельных определений в анализируемой пробе, выполненные в условиях повторяемости, мг/кг;

$X_{\text{ср}}$ - среднее арифметическое двух параллельных определений, мг/кг;

$r_{\text{отн}}$ – значение предела повторяемости, %

Расхождение между результатами двух определений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости, R , значения которого приведены в таблице 7.

Результат анализа при доверительной вероятности $P = 0,95$ представляют в виде

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

$$|X'_1 - X'_2| \leq R_{отн} \times 0,01 \times X'_{cp}, \quad (18)$$

где: X'_1, X'_2 – результаты определений, полученные в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, мг/кг;

X'_{cp} – среднее арифметическое двух определений, полученные в условиях воспроизводимости, мг/кг;

$R_{отн}$ – значение предела воспроизводимости, %

Границы относительной погрешности (δ), находящиеся с доверительной вероятностью $P = 0,95$, при соблюдении условий настоящего стандарта, не должны превышать значений, приведенных в таблице 7.

7.6 Определение влагосвязывающей способности

7.6.1 Аппаратура и материалы: центрифуга, гомогенизатор, весы технические, стаканы химические емкостью 150-200 мл, центрифужные пробирки на 10 мл.

7.6.2 Проведение испытания. На технических весах взвешивают 200 г воды и 10 г животного белка, после чего гомогенизируют в течение 30 сек и выдерживают в течение 30 мин. Полученную суспензию переносят в центрифужные пробирки объемом 10 мл и центрифугируют в течение 10 мин при линейной скорости центрифуги 50 м/сек. После центрифугирования взвешивают пробу после отделения жидкости. К массе пробы добавляют массу веществ, содержащихся в отделенной центрифугированием жидкости, которую определяют высушиванием при 105 °С до постоянной массы.

Влагосвязывающую способность рассчитывают по формуле:

$$\text{ВСС (\%)} = (m_1 + m_3 - m_2) * 100 \% / m_2,$$

где m_1 – масса навески после центрифугирования соответственно, г; m_3 – масса сухого остатка выделившейся жидкости, г; m_2 – масса сухого остатка в навеске, г.

7.7 Определение гелеобразующей способности

7.7.1 Аппаратура и материалы: сито с размером отверстий 0,5 мм, гомогенизатор, весы технические.

7.7.2 Проведение испытания. На технических весах взвешивают 10 г животного белка и от 100 до 300 г воды с шагом 10 г, после чего гомогенизируют в течение 30 сек. Полученную суспензию выдерживают в течение 30 мин и помещают на сито с размером отверстий 0,5 мм. Через 10 мин определяют проходимость геля через отверстия сита. Гелеобразующую способность рассчитывают по формуле:

$$\text{ГО (\%)} = m_1 * 100 \% / m_2,$$

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

где m_1 – максимальное количество добавленной воды, внесение которого обеспечивает непроходимость геля через отверстия сита, г;

m_2 – масса навески животного белка, г.

7.8 Определение микробиологических показателей:

- количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов – по ГОСТ 10444.15;

- бактерий группы кишечных палочек (колиформ) – по ГОСТ 31747;

- патогенных микроорганизмов, в том числе:

Salmonella – по ГОСТ 31659;

7.9 Определение содержания токсичных элементов:

- ртути – по ГОСТ 26927;

- мышьяка – по ГОСТ 26930, ГОСТ 30538, ГОСТ 31628;

- свинца – по ГОСТ 26932, ГОСТ 30178, ГОСТ 30538;

- кадмия – по ГОСТ 26933, ГОСТ 30178, ГОСТ 30538.

7.10 Определение антибиотиков – по ГОСТ 31903, ГОСТ 31694 и нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

7.11 Определение пестицидов – по ГОСТ 32308 и нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

7.12 Определение радионуклидов – по ГОСТ 32161.

7.13 Допускается применение других аттестованных методов контроля с метрологическими характеристиками не ниже характеристик, указанных в разделе 7.

8 Транспортирование и хранение

8.1 Животные белки транспортируют всеми видами транспорта при температуре не выше 25 °С и относительной влажности воздуха не более 70 %. В пакетированном виде транспортируют по ГОСТ 26663. Средства скрепления в транспортные пакеты по ГОСТ 21650 с основными параметрами и размерами по ГОСТ 24597.

8.2 Хранение

8.2.1 Животные белки хранят в соответствии с правилами хранения при температуре не выше 25°С и относительной влажности воздуха не более 70 %.

8.2.2 Хранение животных белков на складах транспортных предприятий не допускается

8.2.3 Срок годности животных белков устанавливает изготовитель. Рекомендуемый срок годности:

ГОСТ (проект, *RU*, первая редакция)

8.3 Транспортирование и хранение животных белков, отправляемого в районы Крайнего Севера и приравненные к ним местности, — по ГОСТ 15846

Библиография

- [1] TP TC 034/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности мяса и мясной продукции»
- [2] TP TC 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции»
- [3] TP TC 022/2011 Технический регламент Таможенного союза «Пищевая продукция в части ее маркировки»
- [4] TP TC 005/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности упаковки»
- [5] ISO5725-2:1994 Международный стандарт Точность (правильность и рецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений(Accuracy (trueness and precision) of measurement Methodsand results -- Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibilityof a standard measurement method)

УДК

МКС

Ключевые слова: животный белок, технические требования, показатели безопасности

ГОСТ (проект, RU, первая редакция)

Разработчики стандарта:
ГНУ ВНИИМП им. В. М. Горбатова Россельхозакадемии

Директор



Лисицын А. Б.

Заместитель директора



Семенова А. А.

Заведующий лабораторией технологии колбас, полуфабрикатов и упаковки



Насонова В.В.

Заведующий отделом стандартизации, сертификации и систем управления качеством



Кузнецова О. А.

Старший научный сотрудник лаборатории технологии колбас, полуфабрикатов и упаковки



Туниева Е.К.