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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
34353—
2017**

ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИЕ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СУХИЕ

Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия» (ФГБНУ ВНИИМС)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 ноября 2017 г. № 52—2017)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 декабря 2017 г. № 1972-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34353—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 сентября 2018 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 52688—2006*

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

* Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 декабря 2017 г. № 1972-ст ГОСТ Р 52688—2006 отменен с 1 сентября 2018 г.

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2018

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 3
4 Классификация 4
5 Технические требования 4
6 Правила приемки 7
7 Методы контроля 8
8 Транспортирование и хранение 36
9 Условия применения 36
Приложение А (обязательное) Требования к контрольным образцам 37
Приложение Б (справочное) Требования к компьютерной программе 38
Библиография 40

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

ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИЕ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СУХИЕ

Технические условия

Dry animal origin milk-clotting enzyme. Specifications

Дата введения — 2018—09—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на препараты ферментные молокосвертывающие животного происхождения сухие (далее — препараты) на основе кислых протеаз животного происхождения, предназначенные для свертывания молока или молочной смеси при производстве молочных, молочных составных и молокосодержащих продуктов.

Требования, обеспечивающие безопасность препаратов, изложены в 5.1.4, требования к качеству — в 5.1.2 и 5.1.3, к маркировке — в 5.3.

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 450—77 Кальций хлористый технический. Технические условия

ГОСТ 857—95 Кислота соляная синтетическая техническая. Технические условия

ГОСТ 1277—75 Реактивы. Серебро азотнокислое. Технические условия

ГОСТ 1341—97 Пергамент растительный. Технические условия

ГОСТ 1760—2014 Подпергамент. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3145—84 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 3560—73 Лента стальная упаковочная. Технические условия

ГОСТ 3622—68 Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию

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

ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4234—77 Реактивы. Калий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4459—75 Реактивы. Калий хромово-кислый. Технические условия

ГОСТ 4919.2—2016 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления буферных растворов

ГОСТ 5981—2011 Банки и крышки к ним металлические для консервов. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 6691—77 Реактивы. Карбамид. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 8273—75 Бумага оберточная. Технические условия

ГОСТ 10131—93 Ящики из древесины и древесных материалов для продукции пищевых отраслей промышленности, сельского хозяйства и спичек. Технические условия

ГОСТ 10354—82 Пленка полиэтиленовая. Технические условия

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

ГОСТ 11354—93 Ящики из древесины и древесных материалов многооборотные для продукции пищевых отраслей промышленности и сельского хозяйства. Технические условия

ГОСТ 11773—76 Реактивы. Натрий фосфорно-кислый двузамещенный. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 12120—82 Банки металлические и комбинированные. Технические условия

ГОСТ 13358—84 Ящики дощатые для консервов. Технические условия

ГОСТ 13511—2006 Ящики из гофрированного картона для пищевых продуктов, спичек, табачных изделий и моющих средств. Технические условия

ГОСТ 13515—91 Ящики из тарного плоского склеенного картона для сливочного масла и маргарина. Технические условия

ГОСТ 13830—97 Соль поваренная пищевая. Общие технические условия

ГОСТ 14192—96 Маркировка грузов

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 16678—71 Слизистые оболочки сычугов крупного рогатого скота и свиных желудков замороженные. Технические условия

ГОСТ 17308—88 Шпагаты. Технические условия

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

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 19881—74 Анализаторы потенциометрические для контроля pH молока и молочных продуктов. Общие технические условия

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

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 25794.3—83 Реактивы. Методы приготовления титрованных растворов для титрования осаждением, неводного титрования и других методов

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

ГОСТ 26670—91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов

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

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 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29185—2014 (ISO 15213:2003) Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета сульфитредуцирующих клостридий, растущих в анаэробных условиях

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

ГОСТ 29228—91 (ИСО 835-2—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 2. Пипетки градуированные без установления времени ожидания

ГОСТ 29251—91 (ИСО 385-1—84) 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 30726—2001 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида Escherichia coli

ГОСТ 31628—2012 Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсионно-вольтамперометрический метод определения массовой концентрации мышьяка

ГОСТ 31659—2012 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella

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

ГОСТ 32891—2014 Сычуги телят, ягнят, козлят-молочников для молокосвертывающих ферментных препаратов. Технические условия

ГОСТ 33629—2015 Консервы молочные. Молоко сухое. Технические условия

ГОСТ ISO 15163—2014 Молоко и молочные продукты. Сычужный фермент из сычугов телят и ферментный препарат из сычугов крупного рогатого скота. Определение содержания химозина и говяжьего пепсина методом хроматографии

ГОСТ ИСО 5725-6—2002* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины в соответствии с [1]—[3], а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **молокосвертывающий ферментный препарат животного происхождения:** Ферментный препарат на основе кислых (карбоксильных) животных протеаз, изготовленный из сычугов телят, ягнят и козлят молочников, а также из слизистой оболочки сычугов крупного рогатого скота и железистых желудков цыплят и кур.

3.2 **сычужный фермент;** СФ: Молокосвертывающий ферментный препарат, изготовленный из сычуга телят, ягнят, козлят молочников или их смеси, с долей молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата не менее 80,0 %.

Примечание — В случае получения препарата с долей молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности менее 80,0 % препарат идентифицируется как сычужно-говяжий.

3.3 **говяжий пепсин;** ГП: Молокосвертывающий ферментный препарат, изготовленный из слизистой оболочки сычугов крупного рогатого скота с долей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата не менее 80,0 %.

3.4 **куриный пепсин;** КП: Молокосвертывающий ферментный препарат, изготовленный из железистых желудков цыплят и кур с долей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата 100,0 %.

3.5 **сычужно-говяжий молокосвертывающий ферментный препарат;** СГ: Молокосвертывающий ферментный препарат, изготовленный из слизистой оболочки сычугов крупного рогатого скота или

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

смешиванием сычужного фермента и говяжьего пепсина, с долей молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата менее 80,0 %.

3.6 **комплексный молокосвертывающий ферментный препарат:** Многокомпонентный составной молокосвертывающий ферментный препарат, изготовленный смешиванием куриного и говяжьего пепсина, куриного пепсина и сычужного фермента, куриного, говяжьего пепсинов и сычужного фермента, с долей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата не более 50,0 %.

3.7 **общая молокосвертывающая активность:** Способность ферментного препарата катализировать коагуляцию казеина молока с образованием хлопьев в молочном субстрате при заданных условиях.

3.8 **продолжительность свертывания молочного субстрата:** Время, затраченное на свертывание молочного субстрата до образования хлопьев после внесения в него раствора молокосвертывающего ферментного препарата.

3.9 **молочный субстрат:** Белково-минеральный комплекс восстановленного обезжиренного молока с установленными физико-химическими показателями, применяемый для определения общей молокосвертывающей активности и долей молокосвертывающей активности химозина и пепсинов от общей молокосвертывающей активности препарата.

3.10 **контрольный образец:** Определенное количество сычужного фермента или говяжьего пепсина, по органолептическим и физико-химическим показателям соответствующее требованиям приложения А, предназначенное для измерения общей молокосвертывающей активности и доли активности химозина или говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности испытуемых молокосвертывающих ферментных препаратов.

Контрольные образцы сопровождаются документом установленной формы.

4 Классификация

4.1 Препараты в зависимости от ферментного состава подразделяют:

- на однокомпонентные;
- многокомпонентные.

4.1.1 Однокомпонентные препараты в зависимости от используемого сырья подразделяют:

- на сычужный фермент;
- говяжий пепсин;
- куриный пепсин.

4.1.2 Многокомпонентные препараты в зависимости от ферментного состава подразделяют:

- на сычужно-говяжьи, содержащие химозин и говяжий пепсин;
- комплексные препараты, содержащие куриный пепсин: курино-говяжьи (КГ), курино-сычужные (КС), курино-говяже-сычужные (КГС).

5 Технические требования

5.1 Основные показатели и характеристики

5.1.1 Препараты изготавливают в соответствии с требованиями [1]—[3] и настоящего стандарта по технологической инструкции на конкретный препарат с соблюдением требований санитарного законодательства государства, принявшего стандарт.

5.1.2 По внешнему виду и органолептическим показателям препараты должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика для	
	сычужного фермента	говяжьего и куриного пепсинов, многокомпонентных препаратов
Внешний вид	Однородный порошок белого или светло-желтого, или светло-серого цвета	Однородный порошок светло-желтого или светло-серого цвета
Запах	Специфический, свойственный животным протеазам, без посторонних запахов	

5.1.3 По физико-химическим показателям препараты должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 2.

Таблица 2

Наименование показателя	Значение показателя для				
	сычужного фермента	говяжьего пепсина	куриного пепсина	сычужно-говяжьих препаратов	комплексных препаратов
Общая молокосвертывающая активность 1 г препарата по свертыванию молочного субстрата на конец срока годности, усл. ед./г, не менее	100 000				
Доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, %	Не менее 80,0	—	—	Не более 80,0	—
Доля молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности, %	—	Не менее 80,0	—	—	—
Доля молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности, %	Не допускается*	Не допускается*	100,0	Не допускается*	Не более 50,0
Массовая доля влаги, %, не более	2,0				
Массовая доля поваренной соли, %, не менее	80,0				
Массовая доля нерастворимого остатка, %, не более	2,0				
Доля молокосвертывающей активности свиного пепсина	Не допускается*				
* Показатели определяют при возникновении разногласий при оценке качества препарата.					

5.1.4 Показатели микробиологической безопасности, содержания потенциально опасных веществ должны соответствовать нормам, установленным в [1]—[3].

5.2 Требования к сырью

5.2.1 Сырье и пищевая добавка, используемые для изготовления препаратов, по показателям безопасности должны соответствовать санитарным правилам и нормам, гигиеническим нормативам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

5.2.2 Для изготовления препаратов используют основное сырье и пищевую добавку.

Основное сырье:

- сычуги телят, ягнят, козлят-молочников по ГОСТ 32891;
- слизистые оболочки сычугов крупного рогатого скота по ГОСТ 16678;
- железистые желудки цыплят и кур замороженные;
- пищевой говяжий пепсин, общей молокосвертывающей активностью 1 г препарата не менее 100 000 усл. ед.;
- пищевой куриный пепсин, общей молокосвертывающей активностью 1 г препарата не менее 100 000 усл. ед.;
- соль поваренная пищевая по ГОСТ 13830, сорта экстра;
- вода питьевая по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

Регулятор кислотности:

- кислота соляная (Е507) по ГОСТ 3118;
- кислота соляная синтетическая техническая (Е507) по ГОСТ 857, марки А.

5.2.3 Допускается использование аналогичного сырья и пищевой добавки, не уступающих по качественным характеристикам, перечисленным в 5.2.2, и соответствующих по показателям безопасности санитарным правилам и нормам, гигиеническим нормативам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

5.3 Маркировка

5.3.1 Маркировка упаковочной единицы

На каждую упаковочную единицу наклеивают, а при фасовании в двойные пакеты вкладывают между пакетами этикетку с указанием:

- наименования препарата. Формирование наименования препарата рекомендуется осуществлять с указанием аббревиатуры препарата и доли молокосвертывающей активности основного компонента от общей молокосвертывающей активности препарата: химозина — для сычужного фермента и сычужно-говяжьих препаратов, говяжьего или куриного пепсинов — для одноименных однокомпонентных препаратов, куриного пепсина — для комплексных препаратов.

Пример — Препарат ферментный молокосвертывающий животного происхождения сухой «Сычужный фермент СФ-85» или «Сычужно-говяжий препарат СГ-50», или «Говяжий пепсин ГП-85», или «Курино-говяжий препарат КГ-50»;

- наименования и местонахождения [юридический адрес, включая страну, адрес места производства (при несовпадении с юридическим адресом)] и организации, уполномоченной изготовителем на принятие претензий от потребителей на территории Таможенного союза, зарегистрированной на территории Таможенного союза;
- товарного знака изготовителя (торговой марки) (при наличии);
- значения общей молокосвертывающей активности;
- состава препарата. Компоненты перечисляют в порядке уменьшения их массовой доли или доли молокосвертывающей активности ферментных компонентов препарата.

Пример — Для сычужного фермента: поваренная соль, химозин, говяжий пепсин;

- номера партии;
- массы нетто;
- даты изготовления;
- срока годности;
- условий хранения до и после вскрытия упаковки;
- рекомендаций по применению;
- обозначения настоящего стандарта;
- единого знака обращения продукции на рынке.

5.3.2 Маркировка транспортной упаковки

На одну из торцевых сторон ящика наносят этикетку с указанием:

- наименования препарата;
- наименования и местонахождения [юридический адрес, включая страну, адрес места производства (при несовпадении с юридическим адресом)] и организации, уполномоченной изготовителем на принятие претензий от потребителей на территории Таможенного союза, зарегистрированной на территории Таможенного союза;
- товарного знака изготовителя (торговой марки) (при наличии);
- номера партии;
- массы нетто или массы брутто (на усмотрение изготовителя);
- даты изготовления;
- срока годности;
- условий хранения;
- манипуляционных знаков «Беречь от солнечных лучей», «Беречь от влаги» по ГОСТ 14192 и надписи «Осторожно, аллерген»;
- обозначения настоящего стандарта.

5.4 Упаковка

5.4.1 Используемые для упаковывания материалы и транспортная упаковка должны соответствовать требованиям [4] и документов, в соответствии с которыми они произведены; обеспечивать сохранность качества и безопасности препаратов при перевозках, хранении и реализации.

5.4.2 Препараты упаковывают в металлические банки для консервов по ГОСТ 5981, металлические и комбинированные банки по ГОСТ 12120, полимерные банки массой нетто от 100 до 1000 г.

Допускается использовать для упаковывания препаратов пакеты из полимерных пленочных материалов, разрешенных для упаковывания пищевых продуктов, или двойные пакеты из полиэтиленовой пленки по ГОСТ 10354. Масса нетто упаковочной единицы — от 100 до 1000 г.

5.4.3 Банки выстилают пергаментом по ГОСТ 1341 или подпергаментом по ГОСТ 1760, или полиэтиленовой пленкой по ГОСТ 10354 или вкладывают пакет из полимерных пленочных материалов, которые в верхней части после помещения препарата загибают к середине.

5.4.4 Пакеты с препаратом заворачивают в оберточную бумагу по ГОСТ 8273, марки А, подпергамент по ГОСТ 1760 или растительный пергамент по ГОСТ 1341, оклеивают клеевой лентой на бумажной основе по ГОСТ 18251 или обвязывают шпагатом по ГОСТ 17308.

5.4.5 Банки или пакеты с препаратом укладывают в дощатые плотные ящики или неразборные ящики из листовых древесных материалов по ГОСТ 10131, или дощатые ящики для консервов по ГОСТ 13358, или многооборотные дощатые ящики, или многооборотные ящики из древесных листовых материалов по ГОСТ 11354. Ящики внутри должны быть выстланы оберточной бумагой по ГОСТ 8273.

5.4.6 Для обеспечения плотности прилегания между банками и пакетами прокладывают оберточную бумагу. Не допускается наличие в ящиках незаполненного объема, в котором при транспортировании возможно свободное перемещение пакетов или банок.

Ящики окантовывают металлической лентой по ГОСТ 3560.

5.4.7 Допускается использование ящиков из гофрированного картона по ГОСТ 13511 или ящиков из тарного плоского склеенного картона по ГОСТ 13515, выстланных внутри оберточной бумагой по ГОСТ 8273 и заклеенных клеевой лентой на бумажной основе по ГОСТ 18251 или полиэтиленовой лентой с липким слоем по ГОСТ 20477.

5.4.8 В ящики с препаратом должны быть вложены мерные штампованные ложечки (1 ложечка на 10 упаковочных единиц), предназначенные для отмеривания препарата массой не более 2,5 г. Мерную ложечку изготавливают из полимерных материалов, разрешенных к применению для пищевых продуктов.

5.4.9 Масса нетто одной транспортной упаковки — не более 20 кг.

5.4.10 Пределы допускаемых отрицательных отклонений массы нетто от номинальной массы нетто и требования к партии фасованных препаратов — в соответствии с ГОСТ 8.579.

5.4.11 Допускается использование аналогичных упаковочных материалов и транспортной упаковки, разрешенных к применению на территории государства, принявшего стандарт.

6 Правила приемки

6.1 Препараты принимают партиями.

Партией считают определенное количество препарата одного наименования, одинаково упакованного, произведенного (изготовленного) одним изготовителем по одному документу в определенный промежуток времени, сопровождаемое товаросопроводительной документацией, обеспечивающей прослеживаемость продукции.

6.2 Для проверки препаратов на соответствие требованиям настоящего стандарта на предприятии-изготовителе проводят следующие виды испытаний:

- приемо-сдаточные испытания;
- периодические испытания.

6.3 Приемо-сдаточные испытания на соответствие требованиям настоящего стандарта проводят методом выборочного контроля для каждой партии препарата по качеству упаковки, соответствию маркировки, массе продукта, органолептическим и физико-химическим показателям.

6.4 Объем выборки от партии составляет 5 % единиц транспортной упаковки. При наличии в партии менее 20 единиц транспортной упаковки отбирают одну.

Выборку упаковочных единиц (банок или пакетов) с препаратом осуществляют методом случайного отбора. При этом от каждой включенной в выборку единицы транспортной упаковки отбирают 1 % упаковочных единиц (но не менее трех).

6.5 При получении неудовлетворительных результатов анализа хотя бы по одному из органолептических и физико-химических показателей проводят повторные испытания удвоенного объема выборки, взятой из той же партии препарата.

Результаты повторных анализов являются окончательными и распространяются на всю партию.

6.6 Периодические испытания проводят по показателям микробиологической безопасности, содержанию потенциально опасных веществ в соответствии с программой производственного контроля.

7 Методы контроля

7.1 Отбор проб

7.1.1 После осмотра целостности упаковки ее вскрывают, содержимое тщательно перемешивают. Из каждой упаковочной единицы отбирают из разных мест точечные пробы препарата. Точечные пробы объединяют, перемешивают, помещают в стерильную емкость с плотно закрывающейся крышкой и используют для проведения оценки качества препарата.

Масса объединенной пробы — около 100 г.

7.1.2 Объединенную пробу делят на две равные части, каждую из которой помещают в сухую чистую герметичную упаковку, снабжают их этикетками с указанием наименования предприятия-изготовителя, наименования препарата, номера партии, даты изготовления, срока годности, массы пробы, даты отбора проб, подписи лица, отобравшего пробу, обозначения настоящего стандарта.

7.1.3 Одну часть упакованной объединенной пробы с протоколом отбора пробы направляют в лабораторию для проведения анализа, другую пломбируют и хранят на случай возникновения разногласий при определении качества препарата.

7.2 Контроль качества упаковки и соответствия маркировки

Контроль качества упаковки и соответствия маркировки проводят внешним осмотром каждой упаковочной единицы, вошедшей в выборку.

7.3 Определение массы нетто препарата — по ГОСТ 3622.

7.4 Определение внешнего вида и запаха

7.4.1 Средство измерения, вспомогательное оборудование

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,1 г.

Шпатель.

Допускается применение других средств измерения, не уступающих по метрологическим характеристикам перечисленным выше.

7.4.2 Проведение испытания

7.4.2.1 Отбирают 10 г препарата, которые помещают на гладкую чистую поверхность листа белой бумаги, затем распределяют препарат шпателем слоем около 0,5 см и слегка надавливают другим листом бумаги или шпателем.

Определение внешнего вида подготовленного таким образом препарата проводят визуально при дневном свете.

7.4.2.2 Определение запаха проводят органолептически при осторожном перемешивании шпателем пробы препарата, рассыпанного по 7.4.2.1 на листе бумаги.

7.5 Определение общей молокосвертывающей активности

7.5.1 Сущность метода

Метод основан на измерении продолжительности свертывания молочного субстрата испытуемым препаратом и контрольным образцом сычужного фермента и вычислении общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата по установленной общей молокосвертывающей активности контрольного образца сычужного фермента.

7.5.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда и материалы

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Ультратермостат с терморегулятором, обеспечивающим поддержание температуры (35,0 ± 0,5) °С.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919 с закрытой спиралью и регулятором нагрева.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Секундомер механический.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±1 °С.

Колбы мерные 2-100(500, 1000)-2 по ГОСТ 1770.

Колбы П-2-250-34 по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-50(100, 600, 1000) ТС; Н-2-50(100, 600, 1000) ТХС по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания СВ-19/19(24/10, 34/12) по ГОСТ 25336.

Пипетки градуированные 1(2)-1(2)-1(2)-1(25, 50) по ГОСТ 29228.

Цилиндры 1(3)-50(100, 500, 1000)-2 по ГОСТ 1770.

Воронки В-25(100)-38(150) ХС по ГОСТ 25336.

Палочки лабораторные оплавленные стеклянные длиной (10 ± 1) и (21 ± 1) см, диаметром (5 ± 1) мм.

Ложечка пластмассовая.

Шпатель металлический узкий.

Бумага фильтровальная ГОСТ 12026.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Контрольный образец сычужного фермента в соответствии с приложением А.

Субстрат молочный.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

7.5.3 Подготовка к проведению измерений

7.5.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Дистиллированную воду кипятят не менее 20 мин с целью удаления диоксида углерода.

Кипяченую дистиллированную воду (далее — вода) хранят в посуде с пробкой и хлор-кальциевой трубкой при комнатной температуре не более 10 сут.

7.5.3.2 Приготовление раствора молочного субстрата

Определенное количество молочного субстрата, указанное в товаросопроводительном документе, используемой партии молочного субстрата, и на этикетке пакета с молочным субстратом, вносят небольшими порциями в стакан вместимостью 1 дм^3 с 750 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С при непрерывном перемешивании стеклянной палочкой до полного смачивания молочного субстрата.

Через 10—15 мин не растворившиеся комочки молочного субстрата растирают по стенкам стакана пластмассовой ложечкой до полного их растворения. Полученную смесь переносят в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 1 дм^3. Стакан, стеклянную палочку и ложечку обмывают трижды по 40—50 см^3 воды. Смывы объединяют с содержимым мерной колбы. Колбу закрывают притертой пробкой, содержимое тщательно перемешивают и охлаждают до температуры (20 ± 1) °С под струей проточной воды. В случае невозможности охлаждения проточной водой колбу с молочным субстратом помещают в морозильную камеру и через каждые 10—15 мин содержимое колбы перемешивают до достижения указанной выше температуры.

В колбу добавляют раствор хлористого кальция из комплекта молочного субстрата. Объем раствора субстрата доводят водой до метки. Раствор субстрата перемешивают и выдерживают в холодильнике при температуре (5 ± 1) °С в течение 19—20 ч. Полученный таким образом раствор молочного субстрата используют в течение 24 ч.

Раствор хлористого кальция поставляют с каждой партией молочного субстрата. Количество хлористого кальция, добавляемое в раствор молочного субстрата, указывают в инструкции по приготовлению молочного субстрата. Перед добавлением раствора хлористого кальция в раствор молочного субстрата пипетку с внешней стороны необходимо освободить от капелек хлористого кальция фильтровальной бумагой.

7.5.3.3 Приготовление раствора контрольного образца сычужного фермента

Содержимое упаковки с контрольным образцом сычужного фермента осторожно высыпают в стаканчик для взвешивания вместимостью 50 см^3, не допуская распыления, закрывают притертой пробкой и тщательно перемешивают, переворачивая стаканчик с контрольным образцом несколько раз в вертикальном направлении. Стаканчик оставляют в покое на 1—2 мин. Затем стаканчик открывают и его содержимое осторожно перемешивают узким шпателем круговыми движениями по часовой стрелке и против до однородного состояния.

В соответствии с документом на контрольный образец сычужного фермента в стакан вместимостью 50см^3 взвешивают определенную массу m_1 контрольного образца, который растворяют в небольшом

объеме 10—15 см^3 воды температурой 35 °С, затем количественно переносят, пользуясь стеклянной палочкой, в мерную колбу вместимостью 100 см^3 со вставленной в нее воронкой. Стаканчик и стеклянную палочку не менее трех раз тщательно обмывают по 10—15 см^3 воды температурой 35 °С, смывы объединяют с раствором. Колбу закрывают пробкой, встряхивают несколько раз для перемешивания раствора контрольного образца и ставят в ультратермостат температурой (35,0 ± 0,5) °С на 10 мин. Через 4—5 мин колбу вынимают из ультратермостата, содержимое колбы перемешивают, встряхивая ее несколько раз, и снова помещают в ультратермостат. По истечении 10 мин колбу с раствором контрольного образца вынимают из термостата и охлаждают под струей проточной воды в течение не менее 10 мин, при этом температуру раствора устанавливают равной (20 ± 1) °С. Полученный раствор контрольного образца доводят до метки водой, затем переливают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3 и тщательно перемешивают.

7.5.3.4 Приготовление раствора испытуемого препарата

В стакан помещают 1,000 г испытуемого препарата (m_2) и растворяют его в 10—15 см^3 воды температурой 35 °С, затем количественно переносят, пользуясь стеклянной палочкой, в мерную колбу вместимостью 100 см^3 со вставленной в нее воронкой. Стаканчик и стеклянную палочку не менее трех раз тщательно обмывают по 10—15 см^3 воды температурой 35 °С, смывы объединяют с раствором. Колбу закрывают пробкой, встряхивают несколько раз для перемешивания и ставят в ультратермостат температурой (35,0 ± 0,5) °С на 10 мин. Через 4—5 мин колбу вынимают из ультратермостата, содержимое колбы перемешивают, встряхивая ее несколько раз, и снова помещают в ультратермостат. По истечении 10 мин колбу с раствором испытуемого препарата вынимают из термостата и охлаждают под струей проточной воды в течение не менее 10 мин, при этом температуру раствора устанавливают равной (20 ± 1) °С. Полученный раствор испытуемого препарата доводят до метки водой, затем переливают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3 и тщательно перемешивают.

7.5.4 Проведение измерений

7.5.4.1 Измерение продолжительности свертывания молочного субстрата, приготовленного по 7.5.3.2, растворами контрольного образца сычужного фермента и испытуемого препарата проводят в двух параллельных определениях.

7.5.4.2 В два стакана вместимостью 100 см^3 с помещенными в них стеклянными палочками вносят по 50 см^3 раствора молочного субстрата. Стаканы помещают в ультратермостат температурой (35,0 ± 0,5) °С и оставляют в ультратермостате на 10—15 мин. При этом уровень воды в бане термостата должен быть не ниже уровня молочного субстрата в стаканах.

7.5.4.3 В два стакана с раствором молочного субстрата, находящиеся в ультратермостате, вносят по 0,5 см^3 раствора контрольного образца сычужного фермента. Одновременно с началом внесения раствора контрольного образца сычужного фермента включают секундомер. Содержимое стаканов тщательно перемешивают стеклянными палочками в течение 3—5 с.

После периодического перемешивания стеклянной палочкой с интервалом в 1—2 с раствор молочного субстрата осторожно наносят на стенки стакана. Наблюдают за появлением хлопьев. При появлении хлопьев в стекающем слое раствора молочного субстрата фиксируют время их образования.

Продолжительность свертывания молочного субстрата отсчитывают с момента внесения раствора контрольного образца сычужного фермента до момента появления хлопьев.

За окончательный результат измерения принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать 6 с, в противном случае анализ повторяют.

7.5.4.4 Измерение продолжительности свертывания раствора молочного субстрата раствором испытуемого препарата проводят аналогично 7.5.4.2 и 7.5.4.3.

Допускаемое расхождение между параллельными измерениями продолжительности свертывания молочного субстрата раствором испытуемого препарата — 10 с.

Если значения продолжительности свертывания молочного субстрата растворами испытуемого препарата и контрольного образца сычужного фермента различаются более чем на 40 с, то скорректированную массу пробы испытуемого препарата m_3, г, рассчитывают по формуле

$$m_3 = \frac{m_2 \cdot t_1}{t_2}, \quad (1)$$

где m_2 — масса пробы испытуемого препарата по 7.5.3.4, г;

t_1 — продолжительность свертывания молочного субстрата раствором испытуемого препарата, с;

t_2 — продолжительность свертывания молочного субстрата раствором контрольного образца сычужного фермента, с.

Далее проводят измерение продолжительности свертывания молочного субстрата раствором испытуемого препарата уточненной массы.

7.5.5 Обработка результатов измерений

7.5.5.1 Общую молокосвертывающую активность испытуемого препарата A_1, усл. ед./г, рассчитывают по формуле

$$A_1 = \frac{m_1 \cdot t_2 \cdot A_2}{m_2 \cdot t_1}, \quad (2)$$

где m_1 — масса контрольного образца сычужного фермента, г;

t_2 — продолжительность свертывания молочного субстрата раствором контрольного образца сычужного фермента, с;

A_2 — общая молокосвертывающая активность контрольного образца сычужного фермента, указанная в товаросопроводительном документе, усл. ед./г;

m_2 — масса пробы испытуемого препарата по 7.5.3.4, г;

t_1 — продолжительность свертывания молочного субстрата раствором испытуемого препарата, с.

7.5.5.2 Общую молокосвертывающую активность испытуемого препарата A_1, усл. ед./г, в случае корректировки его массы, вычисляют по формуле

$$A_1 = \frac{m_1 \cdot t_2 \cdot A_2}{m_3 \cdot t_3}, \quad (3)$$

где m_3 — уточненная масса пробы испытуемого препарата, г;

t_3 — продолжительность свертывания молочного субстрата раствором испытуемого препарата, с.

7.5.5.3 Вычисление проводят с точностью до первого десятичного знака после запятой. Результат округляют до целого числа.

За окончательный результат измерений общей молокосвертывающей активности принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, выполненных в условиях повторяемости и удовлетворяющих условию приемлемости (5).

7.5.5.4 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ приведены в таблице 3.

Таблица 3

В условных единицах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы, в которых находится абсолютная погрешность метода) $\pm\Delta$
Общая молокосвертывающая активность 1 г препарата	От 70 000 до 160 000 включ.	10 000	39 800	28 300

7.5.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.5.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях повторяемости ($n = 2$) проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|A_{1;1} - A_{1;2}| \le r, \quad (4)$$

где $A_{1;1}$, $A_{1;2}$ — значения двух параллельных определений общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях повторяемости, усл. ед./г;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 3, усл. ед./г.

Если условие (4) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.5.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|A_{1;3} - A_{1;4}| \le R, \quad (5)$$

где $A_{1;3}$, $A_{1;4}$ — значения измерений общей молокосвертывающей активности, полученные в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, усл. ед./г;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 3, усл. ед./г.

7.6 Определение доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата для контроля сычужного фермента и сычужно-говяжьих препаратов

7.6.1 Сущность метода

Метод основан на измерении продолжительности свертывания молочного субстрата препаратами контрольных образцов сычужного фермента и говяжьего пепсина, испытуемым препаратом при разных значениях активной кислотности и расчете доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата.

7.6.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Анализаторы потенциометрические по ГОСТ 19881, типа I, с пределами допускаемого значения основной абсолютной погрешности преобразователя ±0,05 ед. pH.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,002 г.

Ультратермостат, обеспечивающий поддержание температуры (35 ± 1) °С.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919 с регулятором мощности нагрева.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

Секундомер.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±1 °С.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Воронки В-25(100)-38(150) ХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 1(2)-(100, 1000)-1(2) по ГОСТ 1770.

Колбы конические Кн-2-100-34 ТС по ГОСТ 25336.

Пипетки градуированные 1(2)-1(2)-1(5, 10) по ГОСТ 29228.

Стаканы В-1-50(100) ТХС по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания СН-34/12(45/13, 60/14) по ГОСТ 25336.

Цилиндры 1-(100, 1000)-2 по ГОСТ 1770.

Палочки стеклянные различной длины.

Шпатели металлические или пластмассовые.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Контрольный образец сычужного фермента в соответствии с приложением А.

Контрольный образец говяжьего пепсина в соответствии с приложением А.

Субстрат молочный.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Все используемые реактивы должны иметь квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

7.6.3 Подготовка к проведению измерений

7.6.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Приготовление кипяченой дистиллированной воды — по 7.5.3.1.

7.6.3.2 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации c (HCl) = 1,0 моль/дм^3

Раствор соляной кислоты готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 25794.1.

85 см^3 соляной кислоты (плотностью 1188 кг/м^3) осторожно при перемешивании вливают в стакан с предварительно помещенными в него 500 см^3 воды, затем содержимое стакана переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3. Стенки стакана обмывают водой пять раз по 10 см^3, смывы объединяют с раствором. Объем раствора в колбе доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

Раствор хранят не более 3 мес.

7.6.3.3 Приготовление рабочих растворов молочного субстрата

Определенное количество молочного субстрата, указанное в товаросопроводительном документе используемой партии молочного субстрата и на этикетке пакета с молочным субстратом, вносят небольшими порциями в стакан вместимостью 1 дм^3 с 750 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С при непрерывном перемешивании стеклянной палочкой до полного смачивания молочного субстрата.

Через 10—15 мин не растворившиеся комочки молочного субстрата растирают по стенкам стакана пластмассовой ложечкой до полного их растворения. Полученную смесь переносят в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 1 дм^3. Стакан, стеклянную палочку и ложечку обмывают трижды по 40—50 см^3 воды. Смывы объединяют с содержимым мерной колбы. Мерную колбу закрывают притертой пробкой, содержимое тщательно перемешивают и охлаждают до температуры (20 ± 1) °С под струей проточной воды. В случае невозможности охлаждения проточной водой мерную колбу с молочным субстратом помещают в морозильную камеру и через каждые 10—15 мин содержимое колбы перемешивают до достижения указанной выше температуры.

В мерную колбу добавляют раствор хлористого кальция из комплекта молочного субстрата. Объем раствора субстрата доводят водой до метки. Раствор молочного субстрата перемешивают и выдерживают в холодильнике при температуре (5 ± 1) °С в течение 19—20 ч. Полученный таким образом раствор молочного субстрата используют в течение 24 ч.

Раствор хлористого кальция поставляют с каждой партией молочного субстрата. Количество хлористого кальция, добавляемое в раствор молочного субстрата, указывают в инструкции по приготовлению молочного субстрата. Перед добавлением раствора хлористого кальция в раствор молочного субстрата пипетку с внешней стороны необходимо освобождать от капелек хлористого кальция фильтровальной бумагой.

Затем раствор молочного субстрата делят на две части, в каждой части определяют активную кислотность и непосредственно перед проведением измерений доводят ее значения раствором соляной кислоты молярной концентрации 1,0 моль/дм^3 до 6,50 ед. pH и 5,50 ед. pH.

Растворы молочного субстрата с заданным значением активной кислотности используют в течение 24 ч.

7.6.3.4 Приготовление растворов испытуемого препарата, контрольного образца сычужного фермента и контрольного образца говяжьего пепсина

В стаканы отдельно помещают по 0,50 г испытуемого препарата, контрольного образца сычужного фермента и контрольного образца говяжьего пепсина, каждый растворяют в 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Растворы переносят в мерные колбы вместимостью 100 см^3. Стаканы трижды ополаскивают 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Смывы объединяют с растворами. Растворы тщательно перемешивают, помещают в ультратермостат и выдерживают при температуре (35 ± 1) °С в течение 10 мин, периодически перемешивая. По истечении указанного времени растворы охлаждают до температуры (20 ± 1) °С, объем доводят до метки водой и перемешивают. Далее растворы ферментных препаратов переносят в конические колбы вместимостью 100 см^3.

7.6.4 Проведение измерений

7.6.4.1 В шесть стаканчиков вместимостью 50 см^3 с помещенными в них стеклянными палочками вносят по 50 см^3 раствора молочного субстрата активной кислотностью (6,50 ± 0,05) ед. pH, которые помещают в ультратермостат температурой (35 ± 1) °С и выдерживают их в течение 10—15 мин до достижения температуры в смеси (35 ± 1) °С. При этом уровень воды в ультратермостате должен быть не ниже уровня молочного субстрата в стаканах.

7.6.4.2 В два стакана с раствором молочного субстрата, помещенных в соответствии с 7.6.4.1 в ультратермостат, вносят с интервалом в 1 мин по 1 см^3 раствора контрольного образца

сычужного фермента, приготовленного по 7.6.3.4. После внесения раствора контрольного образца сычужного фермента включают секундомер, содержимое стаканов тщательно перемешивают в течение 3—5 с.

7.6.4.3 После периодического перемешивания стеклянной палочкой с интервалом в 1—2 с раствор молочного субстрата осторожно наносят на стенки стакана. При появлении хлопьев в стекающем слое молочного субстрата фиксируют время их образования. Продолжительность свертывания отсчитывают с момента внесения контрольного образца сычужного фермента до появления хлопьев.

7.6.4.4 Измерение продолжительности свертывания раствора молочного субстрата активной кислотностью (6,50 ± 0,05) ед. pH под действием контрольного образца говяжьего пепсина и испытуемого препарата проводят в соответствии с 7.6.4.2 и 7.6.4.3.

7.6.4.5 Измерение продолжительности свертывания раствора молочного субстрата активной кислотностью (5,50 ± 0,05) ед. pH под действием контрольных образцов сычужного фермента, говяжьего пепсина и испытуемого препарата проводят в соответствии с 7.6.4.1—7.6.4.3. При этом вносимый объем каждого раствора должен составлять 0,5 $см^3$.

7.6.5 Обработка результатов измерений

7.6.5.1 Долю молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности в испытуемом препарате D_1, %, рассчитывают по формуле

$$D_1 = D_2 - \frac{K_1 - K_2}{K_3 - K_2} \cdot (D_2 - D_3), \quad (6)$$

где D_2 — доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности в контрольном образце сычужного фермента, приведенная в товаросопроводительном документе на контрольный образец, %;

K_1 — отношение продолжительностей свертывания растворов молочного субстрата активной кислотностью 6,50 ед. pH и 5,50 ед. pH соответственно под действием испытуемого препарата;

K_2 — отношение продолжительностей свертывания растворов молочного субстрата активной кислотностью 6,50 ед. pH и 5,50 ед. pH соответственно под действием контрольного образца сычужного фермента;

K_3 — отношение продолжительностей свертывания растворов молочного субстрата активной кислотностью 6,50 ед. pH и 5,50 ед. pH соответственно под действием контрольного образца говяжьего пепсина;

D_3 — доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности в контрольном образце говяжьего пепсина, приведенная в товаросопроводительном документе на контрольный образец, %.

Вычисление проводят с точностью до второго десятичного знака после запятой с последующим округлением до первого знака после запятой.

За окончательный результат измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата принимают среднеарифметическое двух параллельных измерений, выполненных в условиях повторяемости и удовлетворяющих условию приемлемости (8).

7.6.5.2 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности $P = 0,95$ приведены в таблице 4.

Таблица 4

В процентах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы, в которых находится абсолютная погрешность метода) ±Δ
Доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата	От 30,0 до 50,0 включ.	7,4	15,4	12,7
	Более 50,0	10,8	30,1	26,2

7.6.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.6.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|D_{1;1} - D_{1;2}| \le r, \quad (7)$$

где $D_{1;1}$ и $D_{1;2}$ — значения двух параллельных определений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 4, %.

Если условие (7) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.6.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|D_{1;3} - D_{1;4}| \le R, \quad (8)$$

где $D_{1;3}$ и $D_{1;4}$ — значения двух параллельных определений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, %;

R — предел воспроизводимости, приведенный в таблице 4, %.

7.7 Определение общей молокосвертывающей активности препарата и доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата с применением автоматизированной установки

7.7.1 Сущность метода

Измерение общей молокосвертывающей активности препарата основано на сравнении времени достижения максимальной скорости роста оптической плотности молочного субстрата под действием испытуемого препарата и контрольного образца сычужного фермента и расчете общей молокосвертывающей активности с использованием компьютерной программы.

Измерение доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности основано на оценке времени достижения максимальных скоростей роста оптической плотности молочных субстратов при разных значениях активной кислотности под действием контрольного образца сычужного фермента, контрольного образца говяжьего пепсина и испытуемого препарата и расчете доли молокосвертывающей активности химозина с использованием компьютерной программы.

Метод применяют при возникновении разногласий.

7.7.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Анализаторы потенциометрические по ГОСТ 19881, типа I, с пределами допускаемого значения основной абсолютной погрешности преобразователя не более ±0,05 ед. pH.

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры от 16 до 50 °С, погрешностью ±1 °С.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,02 г, ±0,002 г.

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Установка для определения общей молокосвертывающей активности препарата и доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата в соответствии с рисунком 1 и укомплектованная:

- фотометром для измерения оптической плотности при длине волны измерения λ = (450 ± 10) нм, имеющим линейную шкалу оптических плотностей в диапазоне от 0,0 до 2,0 *D* с отклонением от линейности не более 0,5 % всей шкалы, цифровой выход (не менее пяти цифр), скорость передачи информации не менее 9600 bod (интерфейс RS 232) типа ECOM-F 6124, Eppendorf;

- проточной термостатируемой кюветой длиной оптического пути (1,00 ± 0,10) см и температурой термостатирования (37,0 ± 0,2) °С;

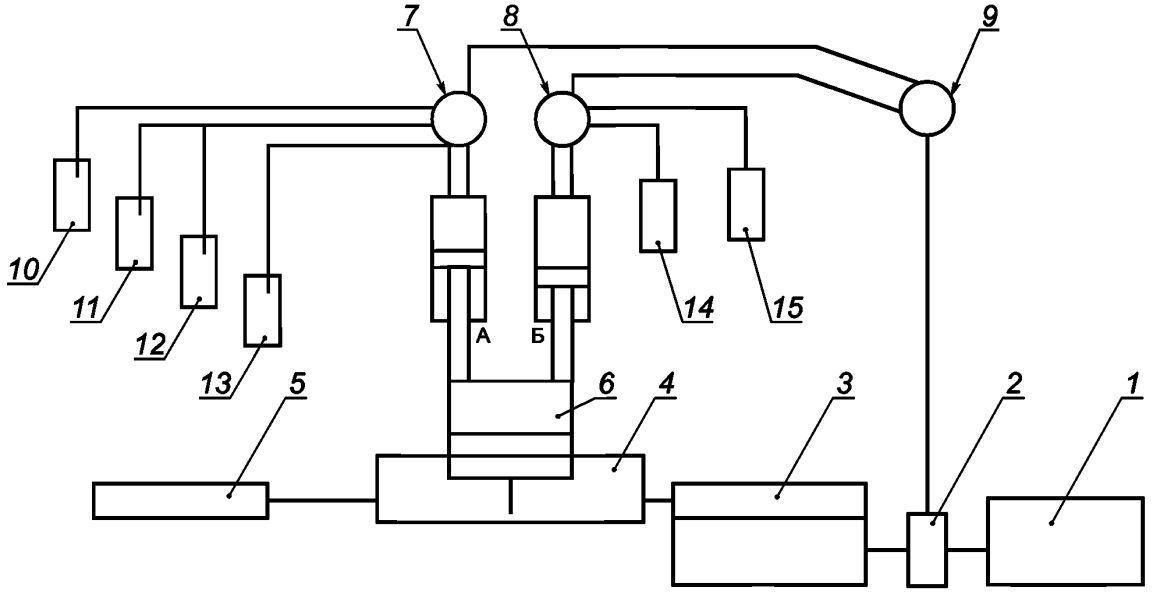
- программируемым восьмиканальным двухшприцевым дозатором реагентов, обеспечивающим смешение растворов препарата и молочного субстрата в потоке в соотношении 5:1 при активной кислотности 6,50 ед. pH и в соотношении 1:19 при активной кислотности 5,60 ед. pH, погрешностью по объему не более ±1 %, и подачу смеси в проточную термостатируемую кювету типа Microlab OEM Hamilton с двумя дозирующими шприцами вместимостью 5 $см^3$ и поворотными клапанами;

- смесителями;

- соединительными гибкими шлангами из инертного материала (тефлона);

- компьютером, обеспечивающим накопление и математическую обработку фотометрических данных, управление дозатором реагентов, отвечающим следующим требованиям: ОЗУ — не менее 32 Мбайт; видеомонитор — с техническими характеристиками не ниже, чем SVGA; процессор Intel Pentium 100 Мгц; параллельный порт типа LPT; два последовательных COM порта (стандарт RS-232C);

- программой, обеспечивающей выполнение измерительно-вычислительного цикла, функциональные требования к которой приведены в приложении Б.



1 — источник света; 2 — термокювета; 3 — фотометр; 4 — интерфейс; 5 — компьютер;
6 — двухшприцевой дозатор: А — для растворов ферментов, Б — для растворов молочного субстрата;
7, 8 — поворотные клапаны; 9 — смеситель; 10—13 — растворы ферментов; 14 — раствор молочного субстрата № 1;
15 — раствор молочного субстрата № 2

Рисунок 1 — Установка для определения общей молокосвертывающей активности препаратов

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±1 °С.

Шкаф сушильный электрический, поддерживающий температуру от 0 до 200 °С с погрешностью ±2 °С.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

Мешалка магнитная.

Колбы мерные 2-50(100, 500, 1000, 2000)-2 по ГОСТ 1770.

Колбы П-1-250(500, 1000, 2000)-24/29 ТС с пробками по ГОСТ 25336.

Пипеттер вместимостью 1 $см^3$, погрешностью дозирования не более 0,6 % по объему.

Пипетки с одной отметкой 2-2-2(20, 50) по ГОСТ 29169.

Пипетки градуированные 1-1(2)-1-10(25) по ГОСТ 29228.

Цилиндры 1(2)-250(500, 1000, 2000)-1 по ГОСТ 1770.

Стаканчик для взвешивания СВ-14/8 по ГОСТ 25336.

Воронки В-56(100)-80(150) ХС по ГОСТ 25336.

Посуда лабораторная из темного стекла с пробками или крышками вместимостью 100, 500, 1000 и 2000 $см^3$.

Эксикатор 1-290 по ГОСТ 25336.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199.

Кальций хлористый по ГОСТ 450.

Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 61.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Молоко сухое обезжиренное по ГОСТ 33629.

Контрольный образец сычужного фермента в соответствии приложением А.

Контрольный образец говяжьего пепсина в соответствии с приложением А.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Все используемые реактивы должны иметь квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

7.7.3 Подготовка к проведению измерений

7.7.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Приготовление кипяченой дистиллированной воды — по 7.5.3.1.

7.7.3.2 Приготовление раствора хлористого кальция молярной концентрации c ($CaCl_2$) = 2,5 моль/$дм^3$

27,75 г хлористого кальция, предварительно высушенного при температуре (105 ± 2) °С до постоянной массы (потеря массы между последовательными взвешиваниями не должна превышать 0,001 г), переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и растворяют в небольшом количестве воды. Доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят в посуде из темного стекла в холодильнике при температуре от 3 до 7 °С не более 6 мес.

Раствор хранят при комнатной температуре не более 6 сут.

7.7.3.3 Приготовление раствора уксусной кислоты молярной концентрации c (CH_3COOH) = = 0,2 моль/$дм^3$

Раствор уксусной кислоты готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

5,7 $см^3$ уксусной кислоты переносят в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, растворяют в небольшом количестве воды, доводят объем раствора до метки водой и перемешивают.

7.7.3.4 Приготовление раствора уксусной кислоты молярной концентрации c (CH_3COOH) = = 0,12 моль/$дм^3$

6,8 $см^3$ уксусной кислоты переносят в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, растворяют в небольшом количестве воды, доводят объем раствора до метки водой и перемешивают.

Растворы, приготовленные по 7.7.3.3 и 7.7.3.4, хранят в посуде из темного стекла при комнатной температуре не более 30 сут.

При наличии в растворе помутнения и/или осадка в виде хлопьев раствор следует заменить свежеприготовленным.

7.7.3.5 Приготовление раствора уксуснокислого натрия молярной концентрации c ($CH_3COONa\ 3H_2O$) = 0,2 моль/$дм^3$

Раствор уксуснокислого натрия готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

54,4 г уксуснокислого натрия помещают в мерную колбу вместимостью 2000 $см^3$, растворяют в воде, доводят объем раствора до метки водой, перемешивают и выдерживают 1 ч при комнатной температуре.

7.7.3.6 Приготовление раствора уксуснокислого натрия молярной концентрации c ($CH_3COONa\ 3H_2O$) = 0,1 моль/$дм^3$

250 $см^3$ раствора уксуснокислого натрия, приготовленного по 7.7.3.5, вносят в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, доводят объем раствора до метки водой и перемешивают.

Растворы, приготовленные по 7.7.3.5 и 7.7.3.6, хранят в герметичной посуде при комнатной температуре не более 24 ч.

7.7.3.7 Приготовление ацетатного буферного раствора активной кислотностью 6,50 ед. pH

В колбу с оставшимися 1750 $см^3$ раствора уксуснокислого натрия по 7.7.3.5 пипеткой добавляют 20 $см^3$ раствора уксусной кислоты по 7.7.3.3 и перемешивают.

7.7.3.8 Приготовление ацетатного буферного раствора активной кислотностью 5,60 ед. pH

Ацетатный буферный раствор готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

500 $см^3$ раствора уксуснокислого натрия по 7.7.3.6 помещают в колбу вместимостью 1000 $см^3$, пипеткой добавляют 50 $см^3$ раствора уксусной кислоты по 7.7.3.4, закрывают пробкой и перемешивают.

Ацетатные буферные растворы хранят в посуде из темного стекла при комнатной температуре не более 24 ч.

7.7.3.9 Приготовление смеси растворов хлористого кальция и ацетатного буфера с объемным соотношением $CaCl_2$ и CH_3COOH, равным 1:1

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ вносят 25 $см^3$ раствора хлористого кальция по 7.7.3.2, доводят раствор до метки ацетатным буферным раствором по 7.7.3.7 и перемешивают.

7.7.3.10 Приготовление смеси растворов хлористого кальция и ацетатного буфера с объемным соотношением $CaCl_2$ и CH_3COOH, равным 1:3

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 25 $см^3$ раствора хлористого кальция по 7.7.3.2, объем раствора доводят до метки ацетатным буферным раствором по 7.7.3.8 и перемешивают.

Растворы, приготовленные по 7.7.3.9 и 7.7.3.10, хранят в посуде из темного стекла в холодильнике при температуре от 3 до 7 °С не более 6 сут.

7.7.3.11 Приготовление раствора для разбавления активной кислотностью 6,50 ед. pH

1580 $см^3$ ацетатного буферного раствора по 7.7.3.7 помещают в колбу вместимостью 2000 $см^3$, пипеткой добавляют 20 $см^3$ раствора хлористого кальция по 7.7.3.2 и перемешивают.

Раствор хранят в посуде из темного стекла при комнатной температуре не более 24 ч.

7.7.3.12 Приготовление раствора молочного субстрата активной кислотностью 6,50 ед. pH (№ 1, рисунок 1)

В водяную баню температурой (35 ± 1) °С помещают колбу вместимостью 250 $см^3$, содержащую 190 $см^3$ ацетатного буферного раствора по 7.7.3.7. Через 5—10 мин в колбу вносят 1,300 г сухого обезжиренного молока. Раствор молока оставляют в водяной бане для набухания на (20 ± 2) мин. Затем раствор молока перемешивают на магнитной мешалке и вновь выдерживают его в водяной бане 5 мин. После этого в колбу при непрерывном перемешивании раствора молока на магнитной мешалке вносят (10,0 ± 0,1) $см^3$ смеси растворов хлористого кальция и ацетатного буфера по 7.7.3.9 со скоростью (0,0250 ± 0,005) $см^3/с$ с помощью шприцевого дозатора Б установки (см. рисунок 1), предназначенного для дозирования молочного субстрата. Затем колбу с молочным субстратом выдерживают 15 мин в водяной бане и 1 ч при комнатной температуре в темном месте.

7.7.3.13 Приготовление раствора молочного субстрата активной кислотностью 5,60 ед. pH (№ 2, рисунок 1)

В водяную баню температурой (35 ± 1) °С помещают колбу вместимостью 500 $см^3$, содержащую 285 $см^3$ ацетатного буферного раствора по 7.7.3.8. Через 5—10 мин в колбу вносят 0,300 г сухого обезжиренного молока. Раствор молока оставляют для набухания на (20 ± 2) мин. Затем перемешивают раствор на магнитной мешалке и выдерживают его в водяной бане 5 мин. После этого в колбу при непрерывном перемешивании раствора молока на магнитной мешалке вносят (15,0 ± 0,1) $см^3$ смеси растворов хлористого кальция и ацетатного буфера по 7.7.3.10 со скоростью (0,025 ± 0,005) $см^3/с$ с помощью шприцевого дозатора Б установки (см. рисунок 1), предназначенного для дозирования молочного субстрата. Затем колбу с молочным субстратом выдерживают 15 мин в водяной бане и 1 ч при комнатной температуре в темном месте.

Растворы молочных субстратов хранят в герметичной посуде в темном месте при комнатной температуре не более 24 ч.

7.7.3.14 Приготовление раствора контрольного образца говяжьего пепсина

Пробу контрольного образца говяжьего пепсина массой 0,300 г помещают в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, добавляют 15—20 $см^3$ раствора для разбавления по 7.7.3.11 и растворяют, вращая колбу круговыми движениями и не допуская образования пены. Доводят объем раствора до метки раствором для разбавления и тщательно перемешивают. Раствор выдерживают 15 мин при комнатной

температуре. Затем отбирают пипеттером 1 $см^3$ раствора, переносят в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, доводят объем до метки раствором для разбавления и тщательно перемешивают.

Примечание — Время достижения максимальной скорости роста оптической плотности раствора молочного субстрата t_4 по 7.7.3.12 при массе m_1 должно находиться в пределах от 130 до 200 с, в противном случае массу пробы уменьшают, если $t_4 < 130$ с, или увеличивают, если $t_4 > 200$ с.

7.7.3.15 Приготовление раствора контрольного образца сычужного фермента

Раствор контрольного образца сычужного фермента готовят аналогично требованиям 7.7.3.14.

Массу контрольного образца сычужного фермента m_5, г, вычисляют по формуле

$$m_5 = \frac{m_4 \cdot A_3}{A_2}, \quad (9)$$

где m_4 — масса контрольного образца говяжьего пепсина, г;

A_3 — общая молокосвертывающая активность контрольного образца говяжьего пепсина, указанная в товаросопроводительном документе на контрольный образец, усл. ед./г;

A_2 — общая молокосвертывающая активность контрольного образца сычужного фермента, указанная в товаросопроводительном документе на контрольный образец, усл. ед./г.

7.7.3.16 Приготовление смеси растворов контрольных образцов говяжьего пепсина и сычужного фермента с объемным соотношением 1:1

20 $см^3$ раствора контрольного образца говяжьего пепсина по 7.7.3.14 приливают к 20 $см^3$ раствора контрольного образца сычужного фермента по 7.7.3.15 и перемешивают.

Примечание — Данную смесь используют дополнительно к растворам контрольных образцов сычужного фермента и говяжьего пепсина, если значения времени достижения максимальной скорости роста оптической плотности раствора молочного субстрата по 7.7.3.12 для растворов контрольных образцов отличаются более, чем на 10 %.

Необходимую массу смеси контрольных образцов m_6, г, вычисляют по формуле

$$m_6 = \frac{m_4 + m_5}{2}, \quad (10)$$

где m_5 — масса контрольного образца сычужного фермента, г.

7.7.3.17 Приготовление растворов испытуемых препаратов

Растворы испытуемых препаратов готовят аналогично 7.7.3.14.

Растворы контрольных образцов и испытуемых препаратов готовят в день испытания и хранят в герметичной посуде в темноте при комнатной температуре не более 2 ч.

7.7.3.18 Посуду, используемую для приготовления растворов контрольных образцов и испытуемых препаратов, после мойки с моющими средствами тщательно ополаскивают в начале водопроводной, затем дистиллированной водой и прокаливают в сушильном шкафу при температуре от 120 до 130 °С в течение 1 ч.

7.7.4 Проведение измерений

7.7.4.1 Включают фотометр и шприцевой дозатор, устанавливают длину волны измерения $\lambda = 450$ нм и температуру проточной кюветы 37 °С.

7.7.4.2 В установку помещают растворы молочных субстратов, растворы контрольных образцов и раствор испытуемого препарата для двух параллельных измерений, соединяют их шлангами с соответствующими каналами шприцевого дозатора.

7.7.4.3 Запускают компьютерную программу. В соответствии с запросами программного интерфейса задают требуемый режим работы. Вводят информацию о контрольных образцах (значения общей молокосвертывающей активности, долю молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, массу контрольных образцов m_4, m_5, их смеси m_6) и массе испытуемых препаратов m_7. Вводят шифр эксперимента для автоматического занесения введенной и полученной в процессе измерения информации в базу данных и начинают выполнение измерений. Измерения выполняют по программе в соответствии с приложением Б.

7.7.4.4 После выполнения измерений промывают шприцы, клапаны, шланги, смеситель, кювету установки водой. Для этого ко всем каналам шприцевого дозатора, которые использовались в работе,

устанавливают стаканчики с водой объемом 50 см^3 и выполняют промывку в соответствии с программой. Затем шприцевой дозатор промывают этиловым спиртом объемной долей 70 %. После чего приступают к следующей серии измерений.

7.7.5 Обработка результатов измерений

7.7.5.1 По завершении выполнения измерений получают следующие результаты для каждого испытуемого препарата:

- общую молокосвертывающую активность испытуемого препарата A_4, усл. ед./г;
- долю молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата D_4, %.

Порядок выполнения математической обработки данных проводят в соответствии с требованиями, приведенными в приложении Б.

7.7.5.2 За окончательный результат определения общей молокосвертывающей активности препарата принимают среднеарифметическое двух параллельных определений $A_{4;1}$ и $A_{4;2}$, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (12).

7.7.5.3 За окончательный результат определения доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата принимают среднеарифметическое двух параллельных определений $D_{4;1}$ и $D_{4;2}$, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (14).

7.7.6 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 5.

Таблица 5

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы абсолютной погрешности) $\pm\Delta$
Общая молокосвертывающая активность, усл. ед./г	От 50 000 до 100 000	5700	6400	4500
	Св. 100 000	17 200	18 800	11 700
Доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, %	От 10,0 до 90,0	4,2	7,6	5,4

7.7.7 Проверка приемлемости результатов измерений общей молокосвертывающей активности

7.7.7.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|A_{4;1} - A_{4;2}| \le r, \quad (11)$$

где $A_{4;1}$ и $A_{4;2}$ — значения двух параллельных измерений общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях повторяемости, усл. ед./г;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 5, усл. ед./г.

Если условие (11) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.7.7.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|A_{4;3} - A_{4;4}| \le R, \quad (12)$$

где $A_{4;3}$ и $A_{4;4}$ — значения измерений общей молокосвертывающей активности, полученные в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, усл. ед./г;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 5, усл. ед./г.

7.7.8 Проверка приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности

7.7.8.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|D_{4;1} - D_{4;2}| \le r, \quad (13)$$

где $D_{4;1}$ и $D_{4;2}$ — значения двух параллельных измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 5, %.

Если условие (13) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.7.8.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|D_{4;3} - D_{4;4}| \le R, \quad (14)$$

где $D_{4;3}$ и $D_{4;4}$ — значения двух параллельных измерений доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 5, %.

7.8 Определение доли молокосвертывающей активности химозина и говяжьего пепсина методом хроматографии (арбитражный метод)

Определение доли молокосвертывающей активности химозина и говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата проводят по ГОСТ ISO 15163.

7.9 Определение доли молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молоко-свертывающей активности препарата для контроля говяжьего пепсина

7.9.1 Сущность метода

Метод основан на оценке доли молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата после ингибирования химозина раствором карбамида (мочевины) молярной концентрации 5 моль/дм^3 при активной кислотности 2,00 ед. pH и температуре 30 °С.

7.9.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Анализаторы потенциометрические по ГОСТ 19881, типа I, с пределами допускаемого значения основной абсолютной погрешности преобразователя не более ±0,05 ед. pH.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,02 г, ±0,002 г.

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Ультратермостат, обеспечивающий поддержание температуры (30,0 ± 0,5) °С.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

Секундомер.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±1 °С.

Воронки В-25(100)-38(150) ХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 1(2)-(100, 1000)-1(2) по ГОСТ 1770.

Пипетки 1(2)-2-1(5, 10, 25) по ГОСТ 29227.

Пробирки П2-16-150 ХС по ГОСТ 25336.

Штатив для пробирок.

Стаканы В-1-(50, 100) ТХС по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания СН-34/12(45/13, 60/14) по ГОСТ 25336.

Цилиндры 1-(100, 1000)-2 по ГОСТ 1770.

Палочки стеклянные, шпатели металлические или пластмассовые.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий хлористый по ГОСТ 4234.

Карбамид по ГОСТ 6691.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Субстрат молочный.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Все используемые реактивы должны иметь квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

7.9.3 Подготовка к проведению измерений

7.9.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Приготовление кипяченой дистиллированной воды — по 7.5.3.1.

7.9.3.2 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации c (HCl)=0,01 моль/дм^3

Готовят раствор соляной кислоты молярной концентрации c (HCl) = 0,1 моль/дм^3 в соответствии с ГОСТ 25794.1.

100 см^3 раствора соляной кислоты молярной концентрации c (HCl) = 0,1 моль/дм^3 переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают.

Раствор хранят не более 3 мес.

7.9.3.3 Приготовление солянокислого буферного раствора активной кислотностью (2,00 ± 0,05) ед. pH

6,71 г хлористого калия переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3 со вставленной в нее воронкой, растворяют хлористый калий раствором соляной кислоты, приготовленным по 7.9.3.2. Воронку обмывают этим же раствором. Смывы объединяют с раствором хлористого калия и объем раствора доводят до метки раствором соляной кислоты молярной концентрации 0,01 моль/дм^3. Полученный солянокислый буферный раствор тщательно перемешивают.

Раствор хранят не более 1 мес.

7.9.3.4 Приготовление ингибирующего раствора

33,0 г карбамида растворяют в 80 см^3 солянокислого буферного раствора. Устанавливают активную кислотность раствора равным (2,00 ± 0,05) ед. pH добавлением по каплям концентрированной соляной кислоты и доводят его объем до 100 см^3 солянокислым буферным раствором.

Раствор хранят при температуре (5 ± 1) °С не более 15 сут.

7.9.3.5 Приготовление раствора молочного субстрата

Приготовление раствора молочного субстрата — по 7.5.3.2.

7.9.3.6 Приготовление раствора испытуемого препарата

2,500 г испытуемого препарата растворяют в (80 ± 5) $см^3$ солянокислого буферного раствора в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$. Раствор выдерживают в течение 15 мин при температуре 30 °С в водяной бане ультратермостата, затем охлаждают до температуры (20 ± 1) °С, доводят объем солянокислым буферным раствором до метки и перемешивают.

7.9.4 Проведение измерений

7.9.4.1 В четыре стакана вместимостью 50 $см^3$ с помещенными в них стеклянными палочками вносят по 25 $см^3$ молочного субстрата по 7.9.3.5. Стаканы с молочным субстратом устанавливают в ультратермостат температурой 30 °С и выдерживают при этой температуре не менее 15 мин.

7.9.4.2 В две пробирки вносят по 0,5 $см^3$ раствора испытуемого препарата и добавляют в них по 5,0 $см^3$ ингибирующего раствора. Пробирки устанавливают в ультратермостат и выдерживают в течение (10 ± 1) мин при температуре 30 °С.

Через 10—15 мин из пробирок, помещенных в ультратермостат, отбирают по 1 $см^3$ раствора испытуемого препарата с ингибирующим раствором и вносят в два стакана с молочным субстратом, установленные в ультратермостате, измеряют продолжительность свертывания молочного субстрата с начала внесения до момента образования хлопьев, используя секундомер.

7.9.4.3 В две другие пробирки вносят по 0,5 $см^3$ раствора испытуемого препарата и добавляют в них по 5,0 $см^3$ солянокислого буферного раствора. Пробирки устанавливают в ультратермостат и выдерживают от 10 до 15 мин при температуре 30 °С.

Через 10—15 мин из пробирок, помещенных в ультратермостат, отбирают по 1 $см^3$ раствора испытуемого препарата с солянокислым буферным раствором и вносят в два стакана с молочным субстратом, установленные в ультратермостате, измеряют продолжительность свертывания молочного субстрата с начала внесения до момента образования хлопьев, используя секундомер.

7.9.5 Обработка результатов измерений

7.9.5.1 Долю молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата говяжьего пепсина D_5, %, вычисляют по формуле

$$D_5 = \frac{t_5}{t_6} \cdot 100, \qquad (15)$$

где t_5 — продолжительность свертывания молочного субстрата, измеренная в соответствии с 7.9.4.3, с;

t_6 — продолжительность свертывания молочного субстрата, измеренная в соответствии с 7.9.4.2, с.

Вычисление проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого знака после запятой.

За окончательный результат измерений доли молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (17).

7.9.5.2 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 6.

Таблица 6

В процентах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы абсолютной погрешности) ±Δ
Доля молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молоковертывающей активности	От 10,0 до 90,0	12,3	30,2	23,6

7.9.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.9.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|D_{5;1} - D_{5;2}| \le r, \quad (16)$$

где $D_{5;1}$ и $D_{5;2}$ — значения двух параллельных измерений доли молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 6, %.

Если условие (16) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.9.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|D_{5;3} - D_{5;4}| \le R, \quad (17)$$

где $D_{5;3}$ и $D_{5;4}$ — значения двух параллельных измерений доли молокосвертывающей активности говяжьего пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 6, %.

7.10 Определение доли молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата для контроля куриного пепсина и комплексных препаратов

7.10.1 Сущность метода

Метод основан на оценке доли молокосвертывающей активности куриного пепсина испытуемого препарата после ингибирования химозина и говяжьего пепсина в буферном растворе активной кислотностью 7,60 ед. pH при температуре 46,0 °С.

7.10.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Анализаторы потенциометрические по ГОСТ 19881, типа I, с пределами допускаемого значения основной абсолютной погрешности преобразователя не более ±0,05 ед. pH.

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Ультратермостаты, обеспечивающие поддержание температуры (35,0 ± 0,5) °С и (46,0 ± 0,5) °С.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

Секундомер.

Термометры жидкостные стеклянные по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±0,5 °С и ±1,0 °С.

Воронки В-25(100)-38(150) ХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 1(2)-(50, 100, 1000)-1(2) по ГОСТ 1770.

Пипетки градуированные 1(2)-1(2)-1(2)-1(5, 25, 50) по ГОСТ 29228.

Стаканы В-1-50(100, 1000) ТХС по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания СН-34/12(45/13, 60/14) по ГОСТ 25336.

Цилиндры 1-(100, 1000)-2 по ГОСТ 1770.

Пробирки П2-16-150 ХС по ГОСТ 25336.

Штатив для пробирок.

Палочки стеклянные, шпатели металлические или пластмассовые.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773.

Субстрат молочный.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Все используемые реактивы должны иметь квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

7.10.3 Подготовка к проведению измерений

7.10.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Приготовление кипяченой дистиллированной воды — по 7.5.3.1.

7.10.3.2 Приготовление раствора двузамещенного фосфорнокислого натрия молярной концентрации c ($Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$) = 0,2 моль/дм^3

Раствор двузамещенного фосфорнокислого натрия готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

35,600 г двузамещенного фосфорнокислого натрия вносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают.

Раствор хранят не более 10 сут.

7.10.3.3 Приготовление раствора однозамещенного фосфорнокислого калия молярной концентрации c (KH_2PO_4) = 0,2 моль/дм^3

Раствор однозамещенного фосфорнокислого калия готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

27,220 г однозамещенного фосфорнокислого калия растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 дм^3, доводят объем до метки водой.

Раствор хранят не более 10 сут.

7.10.3.4 Приготовление фосфатного буферного раствора активной кислотностью 7,60 ед. pH

В стакане вместимостью 1 дм^3 смешивают 885 см^3 раствора двузамещенного фосфорнокислого натрия со 115 см^3 раствора однозамещенного фосфорнокислого калия. После перемешивания полученный буферный раствор переносят в герметичную посуду из темного стекла, который хранят при температуре (5 ± 1) °С не более 20 сут.

7.10.3.5 Приготовление раствора молочного субстрата

Приготовление раствора молочного субстрата — по 7.5.3.2.

7.10.3.6 Приготовление раствора испытуемого препарата

Взвешивают в двух стаканчиках по 1,000 г испытуемого препарата, который растворяют в 10—15 см^3 фосфатного буферного раствора. Полученные растворы препарата переносят в мерные колбы вместимостью 50 см^3. Стаканчики обмывают 10—15 см^3 фосфатного буферного раствора. Смывы объединяют с растворами, тщательно перемешивают и доводят объемы до метки фосфатным буферным раствором.

7.10.4 Проведение измерений

7.10.4.1 В две пробирки вносят по 5 см^3 раствора испытуемого препарата, приготовленного по 7.10.3.6, и помещают в ультратермостат температурой (46,0 ± 0,5) °С. Через 5 мин пробирки с раствором препарата вынимают из ультратермостата и охлаждают под струей проточной воды до температуры (20 ± 1) °С.

7.10.4.2 В четыре стакана со стеклянными палочками вносят по 50 см^3 раствора молочного субстрата, помещают их в ультратермостат температурой (35,0 ± 0,5) °С, оставляют стаканы в ультратермостате при указанной температуре не менее чем на 10 мин. При этом уровень воды в ультратермостате должен быть не ниже уровня раствора субстрата в стаканах.

7.10.4.3 В два стакана с молочным субстратом, помещенные в ультратермостат, вносят по 1 см^3 раствора испытуемого препарата по 7.10.4.1, содержимое стаканов тщательно перемешивают в течение 3—5 с, и включают секундомер.

7.10.4.4 После периодического перемешивания стеклянной палочкой с интервалом в 1—2 с раствор молочного субстрата осторожно наносят на стенки стакана. При появлении хлопьев в стекающем слое молочного субстрата секундомером фиксируется время их образования с момента внесения раствора испытуемого препарата до появления хлопьев (t_7).

7.10.4.5 В другие два стакана с раствором молочного субстрата, помещенные в ультратермостат, вносят по 1 см^3 раствора испытуемого препарата, приготовленного по 7.10.3.6, содержимое стаканов тщательно перемешивают в течение 3—5 с и включают секундомер.

Проводят измерение продолжительности свертывания раствора молочного субстрата (t_8), как описано в 7.10.4.4.

7.10.5 Обработка результатов измерений

7.10.5.1 Долю молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности в испытуемом препарате D_6, %, вычисляют по формуле

$$D_6 = \frac{t_7}{t_8} \cdot 100, \quad (18)$$

где t_7 — продолжительность свертывания раствора молочного субстрата раствором испытуемого препарата, измеренная по 7.10.4.5, с;

t_8 — продолжительность свертывания раствора молочного субстрата раствором испытуемого препарата по 7.10.4.1, с.

Вычисление доли молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности в препарате проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого знака после запятой.

За окончательный результат измерений доли молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата принимают среднеарифметическое двух параллельных измерений, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (20).

7.10.5.2 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 7.

Таблица 7

В процентах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы абсолютной погрешности) ±Δ
Доля молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата	От 5,0 до 100,0	9,3	23,0	16,1

7.10.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.10.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$\left| D_{6;1} - D_{6;2} \right| \le r, \quad (19)$$

где $D_{6;1}$ и $D_{6;2}$ — значения двух параллельных измерений доли молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 7, %.

Если условие (19) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.10.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|D_{6;3} - D_{6;4}| \le R, \quad (20)$$

где $D_{6;3}$ и $D_{6;4}$ — значения двух параллельных измерений доли молокосвертывающей активности куриного пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 7, %.

7.11 Определение массовой доли влаги

7.11.1 Сущность метода

Метод основан на высушивании испытуемого препарата до постоянной массы при температуре 105 °С.

7.11.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Шкаф сушильный электрический типа СЭШ или другого аналогичного типа, обеспечивающий поддержание температуры (105 ± 2) °С.

Стаканчики для взвешивания СН-34/12(45/13, 60/14) по ГОСТ 25336.

Эксикатор 2-290 по ГОСТ 25336.

Кальций хлористый безводный по ГОСТ 450 или силикагель прокаленный.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

7.11.3 Подготовка к проведению измерений

Два стаканчика для взвешивания с крышками взвешивают, затем помещают в сушильный шкаф и выдерживают при температуре (105 ± 2) °С в течение 1 ч. Затем стаканчики и крышки охлаждают до комнатной температуры в эксикаторе с помещенным в него безводным хлористым кальцием или прокаленным силикагелем. После охлаждения стаканчики с крышками взвешивают. Процедуру повторяют до тех пор, пока разница между последовательными взвешиваниями будет не более 0,001 г. Стаканчики для взвешивания оставляют в эксикаторе до проведения измерений.

7.11.4 Проведение измерений

В два стаканчика взвешивают испытуемый препарат массой от 2,000 до 3,000 г, регистрируя общую массу стаканчика с крышкой и массу препарата. Стаканчики с препаратом помещают в сушильный шкаф температурой (105 ± 2) °С, располагая крышки рядом, и далее проводят процесс сушки и взвешивания аналогично 7.11.3.

7.11.5 Обработка результатов измерений

7.11.5.1 Массовую долю влаги в испытуемом препарате X_1, %, вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{m_9 - m_{10}}{m_9 - m_8} \cdot 100, \quad (21)$$

где m_9 — масса стаканчика для взвешивания с крышкой и препаратом до высушивания, г;

m_{10} — масса стаканчика для взвешивания с крышкой и препаратом после высушивания, г;

m_8 — масса стаканчика для взвешивания с крышкой, г.

Вычисление массовой доли влаги в препарате проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого знака после запятой.

За окончательный результат измерений массовой доли влаги в препарате принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (23).

7.11.5.2 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 8.

Таблица 8

В процентах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы абсолютной погрешности) ± Δ
Массовая доля влаги	От 0,5 до 2,5	0,3	0,6	0,5

7.11.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.11.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений массовой доли влаги, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|X_{1;1} - X_{1;2}| \le r, \quad (22)$$

где $X_{1;1}$ и $X_{1;2}$ — значения двух параллельных определений массовой доли влаги, полученные в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 8, %.

Если условие (22) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.11.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений массовой доли влаги, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|X_{1;3} - X_{1;4}| \le R, \quad (23)$$

где $X_{1;3}$ и $X_{1;4}$ — значения двух параллельных определения массовой доли влаги, полученные в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 8, %.

7.12 Определение массовой доли поваренной соли

7.12.1 Сущность метода

Метод основан на растворении испытуемого препарата в воде, фильтровании раствора, титровании хлоридов раствором азотнокислого серебра и пересчете объема раствора азотнокислого серебра, израсходованного на титрование хлоридов, в массовую долю поваренной соли.

7.12.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,002 г.

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Ультратермостат с терморегулятором, обеспечивающий поддержание температуры (35 ± 1) °С.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919 с регулятором мощности нагрева.

Термометры жидкостные стеклянные по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±1 °С.

Стаканчики для взвешивания СВ-19/19(24/10, 34/12) по ГОСТ 25336.

Бюретка 1-2-50 по ГОСТ 29251.

Колбы мерные 2-100(1000)-2 по ГОСТ 1770.

Колбы Кн-2-100-34 ТХС по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-100 ТС по ГОСТ 25336.

Пипетки 1(2)-2-1(5, 10) по ГОСТ 29227.

Воронки В-100-150 ХС по ГОСТ 25336.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Шпатель металлический узкий.

Серебро азотнокислое по ГОСТ 1277.

Калий хромовокислый по ГОСТ 4459.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Все используемые реактивы должны иметь квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

7.12.3 Подготовка к выполнению измерений

7.12.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Приготовление кипяченой дистиллированной воды — по 7.5.3.1.

7.12.3.2 Приготовление раствора азотнокислого серебра молярной концентрации c ($AgNO_3$) = = 0,1 моль/дм^3

Раствор азотнокислого серебра готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 25794.3.

1,699 г азотнокислого серебра переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, заполняют колбу водой приблизительно до 2/3 объема. Вращая колбу, перемешивают ее содержимое до полного растворения реактива, затем доводят объем колбы водой до метки и снова тщательно перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре в посуде из темного стекла или в посуде, обернутой черной бумагой (или фольгой), не более 3 мес.

7.12.3.3 Приготовление раствора хромовокислого калия массовой концентрации 100 г/дм^3

100,00 г хромовокислого калия отвешивают в стакане вместимостью 100 см^3, переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, растворяют в воде, объем раствора в колбе доводят до метки водой.

Раствор хранят в темной посуде не более 24 ч.

7.12.3.4 Приготовление раствора испытуемого препарата

В двух стаканчиках для взвешивания вместимостью 50 см^3 взвешивают по 1,000 г испытуемого препарата.

Препарат растворяют в 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Растворы переносят в мерные колбы вместимостью 100 см^3. Стаканчики для взвешивания трижды обмывают 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Смывы объединяют с растворами. Растворы тщательно перемешивают, помещают в ультратермостат и выдерживают при температуре (35 ± 1) °С в течение 10 мин, периодически перемешивая. По истечении указанного времени растворы охлаждают до температуры (20 ± 1) °С, объемы доводят до метки водой и содержимое колб перемешивают.

7.12.4 Проведение измерений

Растворы испытуемого препарата фильтруют через бумажные фильтры в конические колбы вместимостью 100 см^3. Из каждой колбы отбирают по 5 см^3 фильтрата и переносят в сухие конические колбы вместимостью 100 см^3. Добавляют 45 см^3 воды и 0,5 см^3 раствора хромовокислого калия и перемешивают. Полученную смесь титруют раствором азотнокислого серебра при постоянном перемешивании до появления слабого кирпично-красного окрашивания. Регистрируют объем раствора азотнокислого серебра, израсходованный на титрование раствора препарата.

7.12.5 Обработка результатов измерений

7.12.5.1 Массовую долю поваренной соли X_2, %, вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{0{,}00585 \cdot V \cdot T_c \cdot 100 \cdot 100}{V_1 \cdot m_{11}}, \qquad (24)$$

где 0,00585 — масса поваренной соли, эквивалентная массе азотнокислого серебра, содержащегося в 1 см^3 его раствора молярной концентрации 0,1 моль/дм^3, г;

V — объем раствора азотнокислого серебра молярной концентрации 0,1 моль/дм^3, израсходованный на титрование раствора испытуемого препарата, см^3;

T_c — поправка к титру раствора азотнокислого серебра молярной концентрации 0,1 моль/дм^3;

100 — общий объем раствора испытуемого препарата, см^3;

100 — коэффициент перевода результата измерения в проценты;

V_1 — объем раствора испытуемого препарата, взятый на титрование, см^3;

m_{11} — масса испытуемого препарата, г.

Вычисление массовой доли поваренной соли в препарате проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

За окончательный результат измерений массовой доли поваренной соли в препарате принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (26).

7.12.5.2 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 9.

Таблица 9

В процентах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы абсолютной погрешности) ±Δ
Массовая доля поваренной соли	От 60,0 до 100,0	4,4	11,2	9,2

7.12.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.12.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений массовой доли поваренной соли в препарате, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|X_{2;1} - X_{2;2}| \le r, \quad (25)$$

где $X_{2;1}$ и $X_{2;2}$ — значения двух параллельных определения массовой доли поваренной соли, полученные в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 9, %.

Если условие (25) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.12.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений массовой доли поваренной соли, полученных в условиях воспроизводимости (m = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|X_{2;3} - X_{2;4}| \le \mathrm{R}, \quad (26)$$

где $X_{2;3}$ и $X_{2;4}$ — значения двух параллельных определения массовой доли поваренной соли, полученные в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 9, %.

7.13 Определение массовой доли нерастворимого остатка

7.13.1 Сущность метода

Метод основан на фильтровании раствора препарата через высушенный до постоянной массы бумажный фильтр, повторном его высушивании до постоянной массы и последующей оценке разности масс фильтра до и после высушивания по отношению к массе препарата.

7.13.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,002 г.

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Ультратермостат с терморегулятором, обеспечивающий поддержание температуры (35 ± 1) °С.

Шкаф сушильный электрический типа СЭШ или другого аналогичного типа, обеспечивающий поддержание температуры (105 ± 2) °С.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919 с регулятором мощности нагрева.

Термометры жидкостные стеклянные по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±0,5 °С и ±1 °С.

Стаканчики для взвешивания СВ-19/19(24/10, 34/12) по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 2-100(1000)-2 по ГОСТ 1770.

Колбы Кн-2-100(250)-34(50) ТХС по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-100 ТС по ГОСТ 25336.

Пипетки 1(2)-2-1(5, 10) по ГОСТ 29227.

Воронки В-100-150 ХС по ГОСТ 25336.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Шпатель металлический узкий.

Эксикатор 2-290 по ГОСТ 25336.

Серебро азотнокислое по ГОСТ 1277.

Кальций хлористый безводный по ГОСТ 450 или силикагель прокаленный.

Калий хромовокислый по ГОСТ 4459.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Все используемые реактивы должны иметь квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

7.13.3 Подготовка к выполнению измерений

7.13.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Приготовление кипяченой дистиллированной воды — по 7.5.3.1.

7.13.3.2 Приготовление раствора азотнокислого серебра молярной концентрации c ($AgNO_3$) = = 0,1 моль/дм^3

Раствор азотнокислого серебра готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 25794.3.

1,699 г азотнокислого серебра переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, заполняют колбу водой приблизительно до 2/3 объема. Вращая колбу, перемешивают ее содержимое до полного растворения реактива, затем доводят объем колбы водой до метки и снова тщательно перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре в посуде из темного стекла или в посуде, обернутой черной бумагой (или фольгой), не более 3 мес.

7.13.3.3 Приготовление раствора хромовокислого калия массовой концентрации 100 г/дм^3

100,00 г хромовокислого калия отвешивают в стакане вместимостью 100 см^3, переносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, растворяют в воде, объем раствора в колбе доводят до метки водой.

Раствор хранят в темной посуде не более 12 мес.

7.13.3.4 Приготовление раствора испытуемого препарата

В два стаканчика вместимостью 50 см^3 отвешивают по 1,000 г испытуемого препарата.

Препарат растворяют в 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Растворы переносят в мерные колбы вместимостью 100 см^3. Стаканчики для взвешивания трижды обмывают 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Смывы объединяют с основными растворами. Растворы тщательно перемешивают, помещают в ультратермостат и выдерживают при температуре (35 ± 1) °С в течение 10 мин, периодически перемешивая. По истечении указанного времени растворы охлаждают до температуры (20 ± 1) °С, объемы доводят до метки водой и содержимое колб перемешивают.

7.13.3.5 В два стаканчика для взвешивания помещают бумажные фильтры, взвешивают с точностью до третьего десятичного знака, устанавливают в сушильный шкаф и выдерживают при температуре (105 ± 2) °С в течение 1 ч. Затем стаканчики с фильтрами охлаждают до комнатной температуры в эксикаторе с помещенным в него безводным хлористым кальцием или прокаленным силикагелем и взвешивают. Процедуру повторяют до тех пор, пока разница между двумя последовательными взвешиваниями будет не более 0,001 г. Стаканчики для взвешивания с фильтрами оставляют в эксикаторе до проведения измерений.

7.13.4 Проведение измерений

7.13.4.1 Растворы испытуемого препарата фильтруют через высушенные и взвешенные бумажные фильтры в конические колбы вместимостью 250 см^3. Фильтры промывают водой температурой 35 °С до отрицательной реакции на присутствие ионов хлора.

Для контроля на присутствие ионов хлора отбирают по 5,0 см^3 фильтрата в сухие конические колбы вместимостью 100 см^3, добавляют по 0,5 см^3 раствора хромовокислого калия по 7.13.3.3, перемешивают, затем добавляют в эти же колбы по 0,5 см^3 раствора азотнокислого серебра, приготовленного по 7.13.3.2. При отсутствии в фильтрате ионов хлора (раствор имеет кирпично-красную окраску) промывание фильтра прекращают.

После промывки фильтры помещают в те же стаканчики для взвешивания, что и перед фильтрованием. Стаканчики для взвешивания с фильтрами высушивают в сушильном шкафу, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Разница между двумя последними взвешиваниями не должна превышать 0,001 г.

7.13.5 Обработка результатов измерений

7.13.5.1 Массовую долю нерастворимого остатка X_3, %, вычисляют по формуле

$$X_3 = \frac{m_{12} - m_{13}}{m_{14}} \cdot 100, \qquad (27)$$

где m_{12} — масса стаканчика для взвешивания с фильтром перед фильтрованием, г;

m_{13} — масса стаканчика для взвешивания с фильтром после фильтрования, г;

m_{14} — масса испытуемого препарата, г;

100 — коэффициент перевода результата измерения в проценты.

Вычисление массовой доли нерастворимого остатка в препарате проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

За окончательный результат измерений массовой доли нерастворимого остатка в препарате принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (29).

7.13.5.2 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности P = 0,95 приведены в таблице 10.

Таблица 10

В процентах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы абсолютной погрешности) ±Δ
Массовая доля нерастворимого остатка	От 0,2 до 5,0	0,4	1,1	1,0

7.13.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.13.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений массовой доли нерастворимого остатка в препарате, полученных в условиях повторяемости (n = 2), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|X_{3;1} - X_{3;2}| \le r, \qquad (28)$$

где $X_{3;1}$ и $X_{3;2}$ — значения двух параллельных определений массовой доли нерастворимого остатка, полученные в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 10, %.

Если условие (28) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.13.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений массовой доли нерастворимого остатка, полученных в условиях воспроизводимости ($m = 2$), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|X_{3;3} - X_{3;4}| \le R, \quad (29)$$

где $X_{3;3}$ и $X_{3;4}$ — значения двух параллельных определений массовой доли нерастворимого остатка, полученные в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 10, %.

7.14 Определение доли молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата

7.14.1 Сущность метода

Метод основан на оценке инактивации свиного пепсина в буферном растворе активной кислотностью 7,00 ед. pH и сравнении продолжительности свертывания молочного субстрата буферным и водным растворами испытуемого препарата.

7.14.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Анализаторы потенциометрические по ГОСТ 19881, типа I, с пределами допускаемого значения основной абсолютной погрешности преобразователя не более ±0,05 ед. pH.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,02 г.

Весы утвержденного типа, проверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

Ультратермостаты, обеспечивающие поддержание температуры (35,0 ± 0,5) °С и (46,0 ± 0,5) °С.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919 с регулятором мощности нагрева.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

Секундомер.

Термометры жидкостные стеклянные по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 0 до 100 °С и пределами допускаемой погрешности ±0,5 °С и ±1 °С.

Воронки В-25-38 ХС, В-100-150 ХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 1(2)-100 (1000)-1(2) по ГОСТ 1770.

Колбы Кн-2-100(250)-34(50) ТХС по ГОСТ 25336.

Пипетки 1(2)-1(2)-1(5, 10, 50) по ГОСТ 29227.

Стаканы В-1-50(100, 250, 1000) ТХС по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания СН-34/12(45/13, 60/14) по ГОСТ 25336.

Цилиндры 1-100 (1000)-2 по ГОСТ 1770.

Палочки стеклянные.

Шпатели металлические или пластмассовые.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота лимонная моногидрат по ГОСТ 3652.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773.

Субстрат молочный.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Все используемые реактивы должны иметь квалификацию «химически чистый» или «чистый для анализа».

7.14.3 Подготовка к выполнению измерений

7.14.3.1 Приготовление кипяченой дистиллированной воды

Приготовление кипяченой дистиллированной воды — по 7.5.3.1.

7.14.3.2 Приготовление раствора лимонной кислоты молярной концентрации c ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) = = 0,1 моль/дм^3

Раствор лимонной кислоты готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

21,014 г моногидрата лимонной кислоты вносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, растворяют в воде, доводят объем раствора до метки водой и тщательно перемешивают.

Раствор хранят при температуре (5 ± 1) °С не более 10 сут.

7.14.3.3 Приготовление раствора двузамещенного фосфорнокислого натрия молярной концентрации c ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) = 0,2 моль/дм^3

Раствор двузамещенного фосфорнокислого натрия готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

36,500 г двузамещенного фосфорнокислого натрия вносят в мерную колбу вместимостью 1 дм^3, растворяют в воде, доводят объем раствора до метки и тщательно перемешивают.

Раствор хранят не более 10 сут.

7.14.3.4 Приготовление фосфат-цитратного буферного раствора активной кислотностью 7,00 ед. pH

Фосфат-цитратный буферный раствор готовят в соответствии с требованиями ГОСТ 4919.2.

35,3 см^3 раствора лимонной кислоты по 7.14.3.2 и 164,7 см^3 раствора двузамещенного фосфорнокислого натрия по 7.14.3.3 смешивают в колбе или стакане вместимостью 250 см^3.

Раствор хранят при температуре (5 ± 1) °С не более 10 сут.

7.14.3.5 Приготовление раствора молочного субстрата

Приготовление раствора молочного субстрата — по 7.5.3.2.

7.14.3.6 Приготовление водного раствора испытуемого препарата

В двух стаканчиках взвешивают по 1,0 г испытуемого препарата. Препарат растворяют в 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Растворы переносят в мерные колбы вместимостью 100 см^3. Стаканчики трижды обмывают 10—15 см^3 воды температурой (35 ± 1) °С. Смывы объединяют с основными растворами. Растворы тщательно перемешивают, помещают в ультратермостат и выдерживают при температуре (35,0 ± 0,5) °С в течение 5 мин, периодически перемешивая. По истечении указанного времени растворы охлаждают до температуры (20 ± 1) °С, объем доводят до метки водой и перемешивают. Далее растворы препарата переносят в конические колбы вместимостью 100 см^3.

7.14.3.7 Приготовление буферного раствора испытуемого препарата

Приготовление буферного раствора испытуемого препарата проводят аналогично 7.14.3.6 с той разницей, что для растворения препарата используют вместо воды фосфат-цитратный буферный раствор по 7.14.3.4.

7.14.4 Проведение измерений

7.14.4.1 В два стакана вместимостью 250 см^3 с помещенными в них стеклянными палочками вносят по 100 см^3 раствора молочного субстрата, которые помещают в ультратермостат при температуре (35 ± 1) °С. Стаканы выдерживают в термостате не менее 10 мин. При этом уровень воды в ультратермостате должен быть не ниже уровня молочного субстрата в стаканах.

7.14.4.2 В два стакана с раствором молочного субстрата, помещенные в ультратермостат, вносят по 1 см^3 водного раствора препарата не позже, чем через 20 мин после начала растворения испытуемого препарата. После внесения раствора препарата включают секундомер, содержимое стаканов тщательно перемешивают в течение 3—5 с.

7.14.4.3 После периодического перемешивания стеклянной палочкой с интервалом в 1—2 с раствор молочного субстрата осторожно наносят на стенки стакана. При появлении хлопьев в стекающем слое молочного субстрата секундомером фиксируют время их образования. Продолжительность свертывания отсчитывают с момента внесения раствора препарата до появления хлопьев.

7.14.4.4 Измерение продолжительности свертывания раствора молочного субстрата под действием фосфат-цитратного буферного раствора испытуемого препарата проводят в соответствии с 7.14.4.2 и 7.14.4.3.

7.14.5 Обработка результатов измерений

7.14.5.1 Долю молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности в испытуемом препарате D_7, %, вычисляют по формуле

$$D_7 = \left(1 - \frac{t_9}{t_{10}}\right) \cdot 100, \qquad (30)$$

где t_9 — продолжительность свертывания раствора молочного субстрата водным раствором испытуемого препарата, с;

t_{10} — продолжительность свертывания раствора молочного субстрата буферным раствором испытуемого препарата, с.

Вычисление доли молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого знака после запятой.

За окончательный результат измерений доли молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости (32).

7.14.5.2 Контроль точности измерений

Характеристики погрешности и прецизионности при доверительной вероятности $P = 0,95$ приведены в таблице 11.

Таблица 11

В процентах

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости r	Предел воспроизводимости R	Точность (границы абсолютной погрешности) $\pm\Delta$
Доля молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности препарата	От 1,5 до 100,0	12,0	29,5	23,2

7.14.6 Проверка приемлемости результатов измерений

7.14.6.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности в препарате, полученных в условиях повторяемости ($n = 2$), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|D_{7;1} - D_{7;2}| \le r, \quad (31)$$

где $D_{7;1}$ и $D_{7;2}$ — значения двух параллельных определения доли молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности в препарате, полученные в условиях повторяемости, %;

r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 11, %.

Если условие (31) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

При повторном превышении указанного значения выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам анализа.

7.14.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений доли молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях воспроизводимости ($m = 2$), проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.3).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми, если выполняется условие

$$|D_{7;3} - D_{7;4}| \le R, \quad (32)$$

где $D_{7;3}$ и $D_{7;4}$ — значения двух параллельных определения доли молокосвертывающей активности свиного пепсина от общей молокосвертывающей активности, полученные в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, значение которого приведено в таблице 11, %.

7.15 Определение микробиологических показателей

7.15.1 Отбор проб препаратов, подготовка их к анализу, общие правила микробиологических исследований — по ГОСТ 26669, ГОСТ 26670.

7.15.2 Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) проводят по ГОСТ 10444.15.

7.15.3 Определение бактерий группы кишечных палочек — по ГОСТ 31747.

7.15.4 Определение бактерий вида E. coli — по ГОСТ 30726.

7.15.5 Определение патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий рода Salmonella, — по ГОСТ 31659.

7.15.6 Определение количества сульфитредуцирующих клостридий — по ГОСТ 29185.

7.16 Определение токсичных элементов

7.16.1 Подготовка проб для определения токсичных элементов — по ГОСТ 26929.

7.16.2 Определение токсичных элементов:

- мышьяка — по ГОСТ 26930, ГОСТ 30178, ГОСТ 30538, ГОСТ 31628;
- свинца — по ГОСТ 26932, ГОСТ 30178, ГОСТ 30538.

8 Транспортирование и хранение

8.1 Препараты транспортируют всеми видами транспорта в изотермических транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок грузов, действующими на транспорте соответствующего вида.

Допускается транспортирование и/или хранение препаратов при нерегулируемых условиях не более 15 сут.

8.2 Препараты хранят в упакованном виде в сухом, защищенном от света помещении при температуре не выше 10 °С и относительной влажности воздуха не более 75 %. Не допускается хранение препаратов в непосредственной близости от отопительных и нагревательных устройств и приборов.

8.3 Препараты во вскрытой упаковке хранят не более 5 сут в сухом, защищенном от света месте при температуре (17 ± 3) °С и относительной влажности воздуха не более 75 %.

8.4 Срок годности препаратов устанавливает изготовитель в зависимости от особенностей технологического процесса изготовления, применяемых упаковочных материалов, условий хранения.

8.5 Рекомендуемый срок годности сычужного фермента, пепсинов для непосредственного применения в сыроделии — 12 мес, для производства комплексных препаратов — 4 мес с даты изготовления.

Использование сычужного фермента и пепсинов для производства комплексных препаратов после 4 мес хранения не допускается.

8.6 Рекомендуемый срок годности комплексных препаратов в сыроделии — 8 мес.

9 Условия применения

9.1 Препараты могут вызывать аллергические реакции, поэтому при изготовлении и использовании необходимо избегать попадания их в глаза и дыхательные пути.

9.2 В случае попадания препарата на слизистую оболочку глаз и дыхательных путей необходимо промыть глаза и прополоскать горло водой или раствором питьевой соды массовой концентрацией 50 г/дм^3.

9.3 На всех технологических стадиях при производстве препаратов следует использовать эффективную приточно-вытяжную вентиляцию.

Приложение А
(обязательное)

Требования к контрольным образцам

А.1 Контрольные образцы сычужного фермента и говяжьего пепсина, используемые при определении общей молокосвертывающей активности и доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препаратов по 7.5—7.7, должны соответствовать следующим требованиям.

А.2 Контрольный образец сычужного фермента

По органолептическим и физико-химическим показателям контрольный образец сычужного фермента должен соответствовать требованиям, изложенным в таблице А.1.

Таблица А.1

Наименование характеристики и показателя	Характеристика и значение показателя
Внешний вид	Однородный порошок
Цвет	Светло-желтый или светло-серый
Запах	Специфический, свойственный животным протеазам
Общая молокосвертывающая активность контрольного образца сычужного фермента по свертыванию молочного субстрата, усл. ед./г	100 000 ± 5000
Доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности контрольного образца сычужного фермента, %, не менее	85

А.3 Контрольный образец говяжьего пепсина

По органолептическим и физико-химическим показателям контрольный образец говяжьего пепсина должен соответствовать требованиям, изложенным в таблице А.2.

Таблица А.2

Наименование характеристики и показателя	Характеристика и значение показателя
Внешний вид	Однородный порошок
Цвет	Светло-желтый или светло-серый
Запах	Специфический, свойственный животным протеазам
Общая молокосвертывающая активность контрольного образца говяжьего пепсина по свертыванию молочного субстрата, усл. ед./г	100 000 ± 5000
Доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности контрольного образца говяжьего пепсина, %, не более	15

Приложение Б
(справочное)

Требования к компьютерной программе

Б.1 Функциональные требования к программе

Б.1.1 Управление дозатором реагентов

Программа должна обеспечивать подачу команд на шприцевой дозатор и отслеживать их выполнение. Команды, подаваемые на дозатор, должны обеспечивать выбор жидкостных каналов дозатора, выбор управляемого шприца, индивидуально для каждого шприца задавать объем и скорость их заполнения, объем и скорость их опорожнения. Каждым из шприцев следует управлять независимо.

Информация о состоянии дозатора должна выдаваться на дисплей компьютера в процессе измерения.

Б.1.2 Контроль температуры реакции

Программа должна контролировать температуру термокюветы с точностью ±0,2 °С и отображать температуру на дисплее компьютера.

Б.1.3 Отбор данных с фотометра

Программа в режиме реального времени должна обеспечивать:

- отбор с интервалом времени (0,110 ± 0,001) с цифровых данных (значений оптической плотности) с фотометра с погрешностью ±0,0005 единиц оптической плотности;
- численное дифференцирование по времени значений оптической плотности;
- отображение во времени значений оптической плотности и значений второй производной оптической плотности по времени на дисплее компьютера;
- запоминание в базе данных информации о значениях оптической плотности (кинетические кривые);
- определение момента прекращения отбора данных с фотометра для текущей реакции (по критерию достижения момента смены знака второй производной оптической плотности во времени).

Б.1.4 Вычисление кинетических параметров текущей кинетической кривой

Программа должна обеспечивать:

- численное дифференцирование массива значений оптической плотности текущей кинетической кривой (построение кривой изменения второй производной зависимости оптической плотности раствора молочного субстрата по времени) для контрольных образцов сычужного фермента и говяжьего пепсина и испытуемого препарата;
- сглаживание методом наименьших квадратов (с целью устранения шумов) дифференциальной кривой в области смены ее знака;
- определение момента времени смены знака дифференциальной кривой, принимаемого за время достижения максимальной скорости роста оптической плотности раствора молочного субстрата;
- отображение графической информации о математической обработке кинетических и дифференциальных кривых на дисплее компьютера;
- запоминание значений времени достижения максимальной скорости роста оптической плотности раствора молочного субстрата в базе данных и отображение их в виде таблицы на дисплее компьютера;
- вычисление отношений времени достижения максимальной скорости роста оптической плотности K_1, K_2, K_3 растворов молочного субстрата № 1 с активной кислотностью 6,50 ед. pH и № 2 с активной кислотностью 5,50 ед. pH под действием испытуемого препарата, контрольных образцов сычужного фермента и говяжьего пепсина, поступление их в базу данных и отображение результатов их измерения в виде диаграммы на дисплее компьютера.

Б.1.5 Построение уравнения для определения доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности препарата

Программа должна обеспечивать вывод уравнения регрессии (Б.1), построенного методом наименьших квадратов по заданным значениям доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности контрольного образца сычужного фермента, контрольного образца говяжьего пепсина и измеренных величин отношений времени достижения максимальной скорости роста оптической плотности растворов молочного субстрата

$$y = b_1 + b_2 \cdot x + b_3 \cdot x^2. \quad (Б.1)$$

Примечание — Квадратичные члены применяют, если для калибровки используют смесь растворов контрольных образцов говяжьего пепсина и сычужного фермента с объемным соотношением 1:1.

Программа должна вычислять D_8 для смеси растворов контрольных образцов говяжьего пепсина и сычужного фермента с объемным соотношением 1:1 по формуле

$$D_8 = \frac{A_2 \cdot m_5 \cdot D_2 + A_3 \cdot m_4 \cdot D_3}{A_2 \cdot m_5 + A_3 \cdot m_4}, \quad (Б.2)$$

где A_2 — общая молокосвертывающая активность контрольного образца сычужного фермента, усл. ед./г;

m_5 — масса контрольного образца сычужного фермента, г;

D_2 — доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности в контрольном образце сычужного фермента, %;

A_3 — общая молокосвертывающая активность контрольного образца говяжьего пепсина, усл. ед./г;

m_4 — масса контрольного образца говяжьего пепсина, г;

D_3 — доля молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности в контрольном образце говяжьего пепсина, %.

Б.1.6 Вычисление доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности в испытуемых препаратах

Программа должна обеспечивать вычисление для испытуемых препаратов доли молокосвертывающей активности химозина от общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата в соответствии с уравнениями Б.1 и Б.2 и значениями отношений времени достижения максимальной скорости роста оптической плотности (Б.1.4).

Б.1.7 Вычисление общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата

Программа должна обеспечивать вычисление значений общей молокосвертывающей активности испытуемого препарата A_4, усл. ед./г, по формуле

$$A_4 = \frac{m_5 \cdot A_2 \cdot t_{11}}{m_7 \cdot t_{12}}, \quad (Б.3)$$

где t_{11} — время достижения максимальной скорости роста оптической плотности раствора молочного субстрата активной кислотностью 6,50 ед. pH под действием контрольного образца сычужного фермента, с;

m_7 — масса навески испытуемого препарата, г;

t_{12} — время достижения максимальной скорости роста оптической плотности раствора молочного субстрата активной кислотностью 6,50 ед. pH под действием испытуемого препарата, с.

Б.1.8 Отображение результатов измерения

Программа должна обеспечивать отображение окончательных результатов измерений (дату и время испытаний, шифр эксперимента, размещение всей информации об эксперименте в базе данных, необходимые комментарии).

Б.2 Организация работы программы

Работа программы должна быть организована исходя из следующих принципов.

Б.2.1 Все расчеты, перечисленные в данном приложении, следует выполнять в режиме реального времени (за время менее 0,1 с). Кроме того, программа должна удовлетворять требованиям операционной системы, обеспечивающей работу в режиме многозадачности.

Б.2.2 Программа должна обеспечивать вывод на дисплей текущей информации, а также информации, затребованной оператором в любой момент как по текущему эксперименту, так и по уже выполненным испытаниям (из базы данных).

Б.2.3 Работу программы следует строить на основе интерпретирования (выполнения) выбранного оператором испытания, составленного на основе перечисления настраиваемых под требуемые задачи макрокоманд.

Б.2.4 Программа должна обеспечивать применение поставляемых с программой рекомендуемых библиотек сценариев, а также предоставлять возможность составления индивидуальных библиотек сценариев. Для составления индивидуальных библиотек сценариев программа должна иметь специализированный редактор, обеспечивающий настройку макрокоманд.

Б.2.5 Интерфейс программы должен обеспечивать в режиме диалога выбор оператором требуемого сценария из библиотеки сценариев и ввод исходной информации.

Библиография

[1] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» (принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 20 июля 2012 г. № 58)

[2] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» (принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 г. № 67)

[3] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» (утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 880)

[4] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» (утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 16 августа 2011 г. № 769)

УДК 637.146.21:006.354 МКС 67.120.99 ОКПД 10.13.15.199

Ключевые слова: препараты молокосвертывающие ферментные животного происхождения сухие, термины и определения, классификация, технические требования, характеристики, показатели, молокосвертывающая активность, доля молокосвертывающей активности от общей молокосвертывающей активности, сычужный фермент, говяжий пепсин, куриный пепсин, комплексные препараты, требования к сырью, маркировка, упаковка, правила приемки, методы контроля, транспортирование и хранение

БЗ 12—2017/24

Редактор *М.В. Терехина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.И. Рычкова*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 18.12.2017. Подписано в печать 17.01.2018. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 5,12. Уч.-изд. л. 4,60. Тираж 33 экз. Зак. 86.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001, Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru