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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 11285— 2017

ЖЕЛЕЗЫ ПОДЖЕЛУДОЧНЫЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ ЗАМОРОЖЕННЫЕ

Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2017

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 1 июня 2017 г. № 51)

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 25 августа 2017 г. № 960-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 11285—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2018 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 11285—93

*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, 2017

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ЖЕЛЕЗЫ ПОДЖЕЛУДОЧНЫЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ ЗАМОРОЖЕННЫЕ

Технические условия

Chilled pancreas of cattle and pigs.Specifications

Дата введения — 2018—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на поджелудочные железы крупного рогатого скота и свиней замороженные (далее — поджелудочные железы), предназначенные для производства инсулина, медицинских и ветеринарных препаратов, ферментных препаратов.

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

ГОСТ 245—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3769—78 Аммоний сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4025—95 Мясорубки бытовые. Технические условия

ГОСТ 4166—76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4171—76 Реактивы. Натрия сульфат 10-водный. Технические условия

ГОСТ 4172—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6552—80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7730—89 Пленка целлюлозная. Технические условия 3

ГОСТ 9142—2014 Ящики из гофрированного картона. Общие технические условия

ГОСТ 9412—93 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 10354—82 Пленка полиэтиленовая. Технические условия

ГОСТ 10873—73 Аммоний сернокислый (сульфат аммония) очищенный. Технические условия

ГОСТ 11109—90 Марля бытовая хлопчатобумажная. Общие технические условия

Издание официальное

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

ГОСТ 14192—96 Маркировка грузов

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

ГОСТ 17626—81 Казеин технический. Технические условия

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

ГОСТ 19360—74 Мешки-вкладыши пленочные. Общие технические условия

ГОСТ 19496—2013 Мясо и мясные продукты. Метод гистологического исследования

ГОСТ 20469—95 Электромясорубки бытовые. Технические условия

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

ГОСТ 23042—2015 Мясо и мясные продукты. Методы определения жира

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

ГОСТ 27460—87 Трубки, капилляры и палочки из боросиликатного стекла 3,3. Общие технические условия

ГОСТ 31689—2012 Казеин. Технические условия

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по 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 следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **поджелудочная железа:** Железа внутренней и внешней секреции, расположенная в брыжейке двенадцатиперстной кишки и участвующая в регуляции обмена веществ.

3.2 **инсулин:** Гормон пептидной природы, вырабатываемый поджелудочной железой.

4 Классификация

4.1 В зависимости от вида животных поджелудочные железы подразделяют на поджелудочные железы крупного рогатого скота и поджелудочные железы свиней.

4.2 В зависимости от качества поджелудочные железы подразделяют на два сорта: первый и второй.

5 Технические требования

5.1 Характеристики

5.1.1 Поджелудочные железы должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и вырабатываться по технологической инструкции с соблюдением требований, установленных нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

5.1.2 Поджелудочные железы замораживают поштучно или в виде блоков. При выработке замороженных поджелудочных желез в виде блоков толщина блока не должна превышать 5 см.

Не допускается повторная заморозка поджелудочных желез (поштучно и в виде блоков).

При формировании блока для последующей заморозки не допускается смешивание поджелудочных желез разных видов животных, разной даты изготовления, разных сортов.

5.1.3 По органолептическим и физико-химическим показателям поджелудочные железы должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и значение показателя для поджелудочных желез			
	крупного рогатого скота		свиней	
	1-го сорта	2-го сорта	1-го сорта	2-го сорта
Внешний вид	Крупнодольчатое строение, форма — треугольная, овальная, трапецевидная, удлиненная, с наличием ветвей. Без наружного жира и прирезей соединительной ткани, поверхность твердая, без повреждений, безо льда и снега. При выработке в виде блоков — укладка плотная, без пустот			
Цвет	От розового с желтоватым оттенком до розовато-красного		От бледно-желтого до розового с нитевидными включениями	
Запах	Свойственный доброкачественным поджелудочным железам, без постороннего			
Температура внутри блока/отдельной железы, °С, не выше	Минус 18			
Массовая доля жира, %, не более	5	7	8	12
Массовая доля инсулина, ЕД/кг, не менее	5000	4000	5000	4000

5.2 Требования к сырью

5.2.1 В качестве сырья используют поджелудочные железы крупного рогатого скота и свиней, выращенных и откормленных в специализированных или индивидуальных хозяйствах с соблюдением ветеринарных и зоогигиенических требований, установленных нормативными правовыми актами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

5.2.2 Поджелудочные железы должны быть получены при убое здоровых животных в промышленных условиях, к использованию допускаются поджелудочные железы, прошедшие положительно ветеринарно-санитарную экспертизу и соответствующие нормативным правовым актам, действующим на территории государства, принявшего стандарт. Процесс отделения и зачистки поджелудочных желез должен завершаться не позднее чем через 15 мин после убоя, включая передачу на замораживание.

5.2.3 Не допускаются поджелудочные железы загрязненные, заплесневевшие, с признаками гнилостного разложения, имеющие посторонний запах, деформированные, с наличием абсцессов или с примесью посторонних тканей.

5.3 Маркировка

5.3.1 Маркировка должна быть четкой, средства для маркировки не должны влиять на показатели качества поджелудочных желез.

5.3.2 На каждой единице потребительской упаковки должна быть этикетка в виде печати на пленке или наклеенная на упаковку или вложенная в нее с указанием:

- наименования продукта;
- наименования и местонахождения изготовителя (юридический адрес, включая страну и, при несовпадении с юридическим адресом, адрес(а) производств(а) и организации, уполномоченной изготовителем на принятие претензий от потребителей на ее территории);
- товарного знака (при наличии);
- даты изготовления;
- условий хранения;
- срока годности;
- массы нетто;
- обозначения настоящего стандарта;
- информации о подтверждении соответствия (при необходимости).

Пример записи наименования продукта при маркировке:
«Поджелудочные железы свиней замороженные».

5.3.3 Транспортная маркировка — с нанесением манипуляционного знака «Пределы температуры» по ГОСТ 14192.

Этикетка с маркировкой, характеризующей продукцию, наклеивают на транспортную упаковку с указанием:

- наименования продукта;
- наименования и местонахождения изготовителя (юридический адрес, включая страну и, при несовпадении с юридическим адресом, адрес(а) производств(а) и организации, уполномоченной изготовителем на принятие претензий от потребителей на ее территории);
- товарного знака (при наличии);
- даты сбора сырья;
- условий хранения;
- срока годности;
- массы нетто;
- обозначения настоящего стандарта;
- информации о подтверждении соответствия (при необходимости).

Аналогичную этикетку вкладывают в каждую единицу транспортной тары.

5.3.4 Маркировка поджелудочных желез, отправляемых в районы Крайнего Севера и приравненные к ним местности, — по ГОСТ 15846.

5.4 Упаковка

5.4.1 Упаковка, упаковочные материалы и скрепляющие средства, разрешенные к применению в пищевой промышленности, должны соответствовать [1] или требованиям нормативных правовых актов, действующих на территории государства, принявшего стандарт, и обеспечивать сохранность и товарный вид поджелудочных желез при транспортировании и хранении в течение всего срока годности.

Полимерные материалы, используемые для упаковки продуктов убоя, по ГОСТ 7730 и ГОСТ 10354 должны удовлетворять следующим требованиям:

- использоваться впервые;
- иметь температуру морозостойкости не выше минус 25 °С;
- иметь толщину не менее 0,03 мм;
- не иметь дефектов: трещин, разрывов, отверстий.

5.4.2 При замораживании поштучно поджелудочные железы укладывают в пакеты из полимерных материалов по ГОСТ 19360 или других материалов, разрешенных в установленном порядке для контакта с аналогичными продуктами и обеспечивающих сохранность и качество продукции при транспортировании и хранении в течение всего срока годности. Далее поджелудочные железы укладывают в ящик из гофрированного картона по ГОСТ 9142, ГОСТ 13511 или в контейнер из полимерных материалов. Допускается поджелудочные железы упаковывать поштучно в пакеты из полимерных материалов под вакуумом.

5.4.3 Поджелудочные железы, замороженные в виде блоков, укладывают в ящик из гофрированного картона по ГОСТ 9142, ГОСТ 13511 или контейнер из полимерных материалов. В ящик из гофрированного картона или контейнер из полимерных материалов вкладывают мешок-вкладыш по ГОСТ 19360 или других материалов, разрешенных в установленном порядке для контакта с аналогичными продуктами и обеспечивающих сохранность и качество продукции при транспортировании и хранении в течение всего срока годности. Мешок-вкладыш должен полностью перекрывать блок с припуском не менее 200 мм.

5.4.4 Ящики из гофрированного картона заклеивают клеевой лентой по ГОСТ 18251, или лентой полиэтиленовой липкой по ГОСТ 20477 или обвязывают полипропиленовой стягивающей (стреппинг) лентой.

5.4.5 Ящики укладывают на поддоны и для скрепления обтягивают растягивающейся пленкой.

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

5.4.7 Упаковка продуктов убоя, отправляемых в районы Крайнего Севера и приравненные к ним местности, — по ГОСТ 15846.

6 Правила приемки

6.1 Поджелудочные железы принимают партиями. Под партией понимают любое количество поджелудочных желез одного вида животных, одного сорта, предъявленное к одновременной сдаче-приемке, оформленное одним сопроводительным документом.

6.2 Для оценки качества поджелудочных желез проводят выборку упаковочных единиц из разных мест партии в зависимости от ее объема в соответствии с количеством, указанным в таблице 2.

Таблица 2

Объем партии (число упаковочных единиц), шт.	Число отобранных упаковочных единиц, шт.
До 100	3
От 101 до 500	7
От 501 до 1000	10
Св. 1000	15

6.3 Органолептические показатели определяют в каждой партии, а также по требованию контролирующих организаций или потребителя. Периодичность контроля массовой доли жира устанавливает изготовитель, а также контроль проводят по требованию контролирующих организаций или потребителя.

6.4 При получении неудовлетворительных результатов проводят повторные испытания на удвоенной выборке от той же партии. Результаты повторных испытаний распространяют на всю партию. При повышенной массовой доле жира в поджелудочных железах второго сорта они могут быть приняты по согласованию с потребителем. Массовую долю инсулина определяют по требованию потребителя.

6.5 В случае разногласия видовой принадлежности поджелудочных желез, а также по требованию контролирующих организаций проводят гистологическую идентификацию на основании данных, представленных производителем.

7 Методы контроля

7.1 Отбор проб и подготовка к анализу

7.1.1 Оборудование и вспомогательные материалы

Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1.

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

Термометр палочный короткий для точных измерений.

7.1.2 Для проведения испытаний поджелудочных желез, замороженных поштучно, берут не менее чем по пять желез из каждой единицы упаковки. Для проведения испытаний поджелудочных желез, замороженных в виде блоков из разных слоев каждого блока, отобранного в выборку, отбирают точечные пробы массой 180—200 г. Из точечных проб составляют объединенную пробу массой (1000 ± 20) г. Объединенную пробу измельчают на мясорубке и тщательно перемешивают, не допуская поднятия температуры в измельченной пробе выше 4 °С.

7.2 Внешний вид и цвет замороженных поджелудочных желез определяют визуально, запах — органолептически.

7.3 Целостность поджелудочных желез и наличие на них прирезей жировой и соединительной тканей определяют визуально после размораживания.

7.4 Температуру поджелудочных желез определяют на глубине от 2 до 3 см полупроводниковым измерителем температуры (ПИТ) или нертутным термометром с диапазоном измерения от минус 38 °С до плюс 35 °С с допустимой погрешностью измерения ±1 °С.

7.5 Определение массовой доли жира в поджелудочной железе проводят по ГОСТ 23042.

7.6 Определение протеолитической активности по методу Лейлян-Фольгарда

7.6.1 Сущность метода заключается в способности ферментов расщеплять белковый субстрат (казеин) с освобождением свободных аминокислот и низших пептидов, которые определяются титрованием 0,1 М раствором гидроокиси натрия.

7.6.2 Аппаратура, материалы и реактивы

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

Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1.

Центрифуга лабораторная.

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры в диапазоне от 60 до 70 °С.
Стакан фарфоровый.
Термостат.
Колбы мерные вместимостью 50, 100, 250 см^3 по ГОСТ 1770.
Палочка стеклянная.
Марля по ГОСТ 9412 или ГОСТ 11109.
Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.
Казеин технический по ГОСТ 17626 или ГОСТ 31689.
Аммоний сернокислый, химически чистый, по ГОСТ 10873.
Кислота соляная, химически чистая, по ГОСТ 3118.
Кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552.
Натрий сернокислый по ГОСТ 4166 или ГОСТ 4171.
Гидроокись натрия, химически чистый, по ГОСТ 4328.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
Гидрофталат калия.
Красный крезоловый.
Фенолфталеин.
Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.
Шкаф сушильный, обеспечивающий температуру высушивания (120 ± 2) °С.
pH-метр.
Пробирки центрифужные по ГОСТ 1770.
Гомогенизатор стеклянный.
Буфер фосфатный, содержащий 300 ингибирующих единиц в 1 см^3 (Ед/см^3) ингибитора протеаз.
Микроизмельчитель тканей с охлаждением не менее 4 °С, скорость оборотов не менее 8000 в мин.

7.6.3 Подготовка к анализу

7.6.3.1 Приготовление 5 %-ного щелочного раствора казеина

12,5 г казеина помещают в фарфоровый стакан и прибавляют дистиллированной воды столько, чтобы покрыть поверхность казеина. Казеин перемешивают стеклянной палочкой, при этом вода поглощается, после чего в стакан вторично прибавляют дистиллированную воду так, чтобы слегка покрыть поверхность казеина. Стакан оставляют на время от 20 до 30 мин для набухания казеина. Затем стакан с казеином помещают на водяную баню, нагретую до температуры от 60 °С до 70 °С и при постоянном перемешивании прибавляют 12,5 см^3 1,0 М раствора гидроокиси натрия.

После полного растворения казеина добавляют еще 100 см^3 воды с температурой 60 °С при тщательном перемешивании.

Содержимое стакана переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Раствор фильтруют через двойной слой марли.

Казеин сохраняется на холоде в течение двух суток.

7.6.3.2 Приготовление 2 %-ного раствора сернокислого аммония

20 г сернокислого аммония помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, прибавляют 80 см^3 дистиллированной воды, тщательно перемешивают до полного растворения, доводят объем раствора той же водой до метки и перемешивают.

Срок годности раствора — 7 сут.

7.6.3.3 Приготовление 15 %-ного раствора сернокислого натрия

15 г сернокислого натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, прибавляют 80 см^3 воды дистиллированной и перемешивают до полного растворения. Доводят объем раствора дистиллированной водой до метки, перемешивают.

Срок годности раствора — 30 сут.

7.6.3.4 Приготовление 1 %-ного раствора крезолового красного

0,1 г крезолового красного (индикатора) помешают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют при перемешивании в 50 см^3 этилового ректификованного спирта, доводят объем раствора дистиллированной водой до метки, перемешивают.

Срок годности раствора — один год при хранении во флаконе темного стекла в защищенном от света месте.

7.6.3.5 Приготовление 0,1 М раствора натрия гидроокиси

4,0 г гидроокиси натрия помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, растворяют в дистиллированной воде при постоянном перемешивании, доводят объем раствора до 1000 см^3, перемешивают.

Срок годности раствора — 30 сут при хранении в плотно укупоренном стеклянном флаконе.

7.6.3.6 Установка титра

0,5 г гидрофталата калия, предварительно высушенного в сушильном шкафу при температуре 120 °С в течение 2 ч, растворяют в 30 см^3 дистиллированной воды и титруют приготовленным раствором гироокиси натрия, используя в качестве индикатора раствор фенолфталиеина. Молярность раствора M, моль/дм^3, вычисляют по формуле

$$M = \frac{a \cdot 1000}{M_m \cdot V}, \quad (1)$$

где a — масса гидрофталата калия, г;

M_m — молекулярная масса калия гидрофталата, г/моль;

V — объем раствора гидроокиси натрия, пошедшего на титрование гидрофталата калия;

1000 — коэффициент пересчета см^3 в дм^3.

7.6.3.7 Приготовление воды, подкисленной до pH = 4,0 ед. pH

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 250 см^3 дистиллированной воды и при постоянном перемешивании небольшими порциями приливают 0,01 М раствор соляной кислоты до достижения в воде значения pH = 4,0 ед. pH (потенциометрически). Приготовленную таким образом воду хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С.

7.6.3.8 Приготовление первого экстрагирующего раствора

167 см^3 дистиллированной воды смешивают с 833 см^3 этилового спирта, а затем к раствору прибавляют 13,6 см^3 концентрированной ортофосфорной кислоты. Раствор готовят перед употреблением и охлаждают до температуры 4 °С.

7.6.3.9 Приготовление второго экстрагирующего раствора

375 см^3 дистиллированной воды смешивают с 625 см^3 96-градусного этилового спирта, затем к раствору прибавляют 2,7 см^3 концентрированной ортофосфорной кислоты.

7.6.3.10 Приготовление 0,05 моль/дм^3 раствора фосфатного буфера, содержащего 150 ингибирующих единиц в 1 см^3 (Ед/см^3)

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 25 см^3 фосфатного буфера, содержащего 300 ингибирующих единиц в 1 см^3, и объем раствора в колбе доводят подкисленной до pH = 4,0 ед. pH водой до метки. Раствор готовят перед применением.

7.6.3.11 Приготовление экстракта поджелудочной железы

100 г размороженной и измельченной с использованием мясорубки поджелудочной железы гомогенизируют в четырехкратном объеме первого экстрагирующего раствора на микроизмельчителе тканей в течение 5 мин при 8000 об/мин, а затем в течение 10 мин при 6000 об/мин, не допуская поднятия температуры в растворе выше 4 °С до гомогенного состояния. По окончании гомогенизации измеряют с помощью мерной колбы объем полученного гомогената (V_1).

10 см^3 полученного гомогената помещают в стакан стеклянного гомогенизатора и продолжают дальнейшее измельчение ткани в течение 10 мин, а затем переносят его в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение (25 ± 5) мин в центрифуге с охлаждением при скорости центрифугирования 5000 об/мин. Надосадочную жидкость сливают в мерную колбу и измеряют ее объем. К осадку приливают второй экстрагирующий раствор в объеме, равном объему надосадочной жидкости, и стеклянной палочкой тщательно перемешивают осадок с раствором. После перемешивания содержимое стакана или центрифужной пробирки переносят в стакан стеклянного гомогенизатора и гомогенизируют осадок в течение 10 мин, при температуре раствора не выше 4 °С. Гомогенат переносят в центрифужный стакан или пробирку и центрифугируют в течение от 20 до 30 мин в центрифуге с охлаждением при скорости центрифугирования 6000 об/мин. Надосадочную жидкость присоединяют к первому экстракту, перемешивают содержимое цилиндра стеклянной палочкой и измеряют общий объем объединенных экстрактов (V_2). 0,1 см^3 объединенного экстракта последовательно разводят охлажденной до 4 °С подкисленной до pH = 4,0 ед. pH водой в 101, 102, 103 и 104 раза. Из полученных разведений 103 и 104 отбирают по 0,25 см^3 раствора и смешивают с равным количеством фосфатного буфера, содержащего 300 Ед/см^3 ингибитора протеаз.

7.6.4 Проведение анализа

Раствор казеина перед определением нагревают до температуры 37 °С. В две мерные колбы вместимостью 100 см^3 наливают по 20 см^3 5 %-ного раствора казеина. Затем в опытную колбу добавляют 10 см^3 анализируемого раствора и колбу помещают в термостат с температурой 37 °С на 1 ч. В контрольную колбу также добавляют 10 см^3 анализируемого раствора и быстро осаждают казеин 0,2 Н раствором соляной кислоты и 10 см^3 15 %-ного раствора сернокислого натрия. Выпавший осадок отфильтровывают и отбрасывают. Через 60 мин проводят точно такое же осаждение в опытной колбе. В чистые колбы отме-

ривают по 10 см^3 фильтрата из опытной и контрольной колб, добавляют по две капли 1,0 %-ного раствора крезолового красного и титруют 0,1 Н раствором гидроокиси натрия до ярко-малинового окрашивания.

Величину протеолитической активности *ПС*, ед./см^3, вычисляют по разнице объемов 0,1 Н раствора натрия гидроокиси, пошедших на титрование опытной и контрольной пробы по формуле

$$ПС = (a - a_к) \cdot K \cdot P, \quad (2)$$

где a и $a_к$ — объем 0,1 Н раствора гидроокиси натрия, пошедшее на титрование соответственно опытной и контрольной пробы, см^3;

K — поправка к титру щелочи;

P — общий объем экстракта после гомогенизации, см^3.

7.7 Определение массовой доли инсулина иммунореактивным методом

7.7.1 Аппаратура, материалы, реактивы

Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1 с наибольшим пределом взвешивания 500 г.

Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1 с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025 или электрическая по ГОСТ 20469 с решеткой, диаметр отверстий которой не более 4,5 мм.

Потенциометр с погрешностью измерения не более ±0,05 ед. pH.

Центрифуга лабораторная.

Центрифуга с горизонтальным ротором и охлаждением.

Гомогенизатор стеклянный.

Микроизмельчитель тканей с охлаждением не менее 4 °С, скорость оборотов не менее 8000 в мин.

Термостат лабораторный, обеспечивающий поддержание заданного температурного режима 30 °С—50 °С.

Гамма-счетчик колодезного типа.

Термометр стеклянный технический с диапазоном измерения 0 °С—100 °С с допускаемой погрешностью измерения ±1 °С.

Встряхиватель лабораторный.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Пробирки П4-5-14/23 ХС по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-500 по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 2-50-2, 2-200-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

Цилиндры 1-100, 1-1000 по ГОСТ 1770.

Ингибитор протеаз, содержащий 10000 ингибирующих единиц в 1 см^3 (Ед/см^3)*.

Сыворотка крови крупного или мелкого рогатого скота.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч., плотностью 1,19 г/см^3.

Аммоний сернокислый безводный по ГОСТ 3769, х. ч.

Натрий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 245, ч. д. а., раствор 0,2 моль/дм^3.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 4172, ч. д. а., раствор 0,2 моль/дм^3.

Вода дистилированная по ГОСТ 6709.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

Кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552, х. ч., плотностью 1,72 г/см^3.

Набор реактивов для радиоиммунологического определения концентрации инсулина с концетрацией инсулина в контрольной сыворотке от 110 до 230 пмоль/дм^3, общая активность 125 инсулина от 30 до 74 кБк, с диапазоном определяемых концентраций от 0 до 1280 пмоль/дм^3.

Пробирки центрифужные лабораторные по ГОСТ 1770.

Палочки из боросиликатного стекла ГОСТ 27460.

7.7.2 Подготовка к анализу

7.7.2.1 Приготовление насыщенного раствора сернокислого аммония

516,5 г серно-кислого аммония помещают в колбу вместимостью 1000 см^3, приливают в нее 500 см^3 горячей дистиллированной воды. После полного растворения соли приготовленный раствор охлаждают до комнатной температуры.

Срок хранения раствора — один месяц.

---

* Примером ингибитора протеаз, содержащего 10000 ингибирующих единиц в 1 см^3, может быть ингибитор протеаз «Гордокс». Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования другого препарата с аналогичными свойствами.

7.7.2.2 Приготовление иммуноглобулинов, свободных от инсулина

К 58 см^3 сыворотки крови прибавляют 42 см^3 насыщенного раствора сернокислого аммония и тщательно перемешивают, затем центрифугируют при скорости центрифугирования 3000 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость сливают, осадок растворяют в дистиллированной воде в объеме, равном исходному объему сыворотки крови. Таким образом проводят трехкратное переосаждение иммуноглобулинов при вышеуказанных условиях. Перед последним осаждением в пробирки вместимостью 5 см^3 разливают по 2 см^3 полученного раствора иммуноглобулинов, а затем в каждую пробирку добавляют по 1,5 см^3 насыщенного раствора сернокислого аммония. Содержимое пробирок тщательно перемешивают, центрифугируют при скорости центрифугирования 3000 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость сливают, пробирки оставляют в наклонном положении на фильтровальной бумаге по ГОСТ 12026 для удаления остатков раствора, после чего пробирки закрывают пробками. Полученные таким образом иммуноглобулины хранят в морозильной камере бытового холодильника в течение двух месяцев. Перед употреблением осадок размораживают и растворяют в 2 см^3 дистиллированной воды.

7.7.2.3 Приготовление фосфатного буфера с pH = (7,5 ± 0,1) ед. pH

В мерную колбу вместимостью 200 см^3 вносят 81,0 см^3 раствора фосфорнокислого двузамещенного натрия концентрации 0,2 моль/дм^3 и 19,0 см^3 раствора фосфорнокислого однозамещенного натрия концентрации 0,2 моль/дм^3. Содержимое колбы перемешивают и измеряют pH. Убедившись, что pH = (7,5 ± 0,1) ед. pH, объем раствора в колбе доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре 4 °С.

7.7.2.4 Приготовление фосфатного буфера с pH = 7,4 ед. pH, содержащего ингибитор протеаз в количестве 300 Ед/см^3

Приготовление раствора зависит от используемого для проведения анализа ингибитора протеаз. При использовании ингибитора протеаз, содержащего ингибитор протеаз в количестве 10000 Ед/см^3, 1,5 см^3 содержимого ампулы переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3, и доводят объем колбы фосфатным буфером (см. 7.7.2.3) до 50 см^3. Раствор должен быть свежеприготовленным и охлажденным до температуры 4 °С.

7.7.2.5 Приготовление подкисленной воды для разведения проб

В стакан вместимостью 500 см^3 наливают 250 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 и при постоянном перемешивании малыми порциями приливают 0,01 моль/дм^3 раствор соляной кислоты до достижения в воде pH = 4,0 ед. pH (потенциометрически). Приготовленную таким образом воду хранят в холодильнике при температуре 4 °С.

7.7.2.6 Приготовление 0,05 моль/дм^3 раствора фосфатного буфера, содержащего ингибитор протеаз в количестве 150 Ед/см^3

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 25 см^3 фосфатного буфера, содержащего ингибитор протеаз в количестве 300 Ед/см^3, и объем раствора в колбе доводят подкисленной до pH = 4,0 ед. pH водой до метки. Раствор готовят перед употреблением.

7.7.2.7 Приготовление первого экстрагирующего раствора

167 см^3 дистиллированной воды смешивают с 833 см^3 этилового спирта, а затем к раствору прибавляют 13,6 см^3 концентрированной ортофосфорной кислоты. Раствор готовят перед употреблением и охлаждают до температуры 4 °С.

7.7.2.8 Приготовление второго экстрагирующего раствора

375 см^3 дистиллированной воды смешивают с 625 см^3 96-градусного этилового спирта, затем к раствору прибавляют 2,7 см^3 концентрированной ортофосфорной кислоты.

7.7.2.9 Приготовление растворов калибровочных проб, антисыворотки, 125-инсулина и буферного раствора

Растворы калибровочных проб, антисыворотки и 125-инсулина готовят из набора реактивов для радиоиммунологического определения концентрации инсулина в соответствии с инструкцией по применению. Буферный раствор и раствор полиэтиленгликоля в данном наборе реактивов поставляют готовыми к употреблению.

7.7.2.10 Подготовка сырья к испытанию

100 г измельченной на мясорубке поджелудочной железы гомогенизируют в четырехкратном объеме первого экстрагирующего раствора на микроизмельчителе тканей в течение 5 мин при скорости центрифугирования 8000 об/мин, а затем в течение 10 мин при скорости центрифугирования 6000 об/мин. По окончании гомогенизации измеряют с использованием мерной колбы объем полученного гомогената (V_1).

10 см^3 гомогената помещают в стакан стеклянного гомогенизатора и продолжают дальнейшее измельчение ткани в течение 10 мин, а затем переносят его в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение (25 ± 5) мин в центрифуге с охлаждением при скорости центрифугирования 5000 об/мин.

Надосадочную жидкость сливают в мерный цилиндр и измеряют ее объем. К осадку приливают второй экстрагирующий раствор в объеме, равном объему надосадочной жидкости, и палочкой из боросиликатного стекла хорошо перемешивают осадок с раствором. После перемешивания содержимое стакана или центрифужной пробирки переносят в стакан стеклянного гомогенизатора и проводят гомогенизацию осадка в течение 10 мин, не допуская поднятия температуры при гомогенизации в растворе выше 4 °С. Гомогенат переносят в центрифужный стакан или пробирку и проводят центрифугирование в течение (25 ± 5) мин в центрифуге с охлаждением при скорости центрифугирования 6000 об/мин. Надосадочную жидкость присоединяют к первому экстракту, перемешивают содержимое цилиндра стеклянной палочкой и измеряют общий объем объединенных экстрактов (V_2).

0,1 см^3 (разведение 1:10) объединенного экстракта последовательно разводят охлажденной до 4 °С и подкисленной до pH = 4,0 ед. pH водой, далее 1 см^3 этого раствора также разводят водой в соотношении 1:10, получают разведения 10^{-2}, 10^{-3} и 10^{-4}.

Из полученных разведений 10^{-3} и 10^{-4} отбирают по 0,25 см^3 раствора и смешивают с равным количеством фосфатного буфера, содержащего 300 Ед/см^3 ингибитора протеаз.

7.7.3 Проведение анализа

7.7.3.1 Проводят два параллельных испытания. В пробирки при комнатной температуре вносят растворы реагентов в последовательности и количестве, указанных в таблице 3.

Таблица 3

Реагенты в порядке их внесения	Количество реагентов, вносимых в пробирки, см^3			
	Т	Н	К	П
Буферный раствор	0,4	0,2	0,1	0,1
125-инсулин	0,1	0,1	0,1	0,1
Калибровочные пробы	—	0,1	0,1	—
Определяемые пробы	—	—	—	0,1
Антисыворотка	—	—	0,1	0,1
Иммуноглобулины	—	—	—	0,1
0,05 моль/дм^3 фосфатный буфер	—	0,1	0,1	—

Примечание — Т — общая активность 125-инсулина, добавляемого в одну пробирку;
Н — неспецифическое связывание для калибровки;
К — калибровочные пробы;
П — определяемые пробы.

Содержимое пробирок тщательно перемешивают и инкубируют от 3 до 4 ч при температуре (37 ± 1) °С в термостате. После инкубации в каждую пробирку, кроме пробирок Т, добавляют по 0,8 см^3 охлажденного раствора полиэтиленгликоля. Содержимое пробирок интенсивно перемешивают в течение 5 мин на встряхивателе. Все пробирки, кроме пробирок Т, одновременно центрифугируют в центрифуге с горизонтальным ротором и охлаждением в течение 20 мин при 3000 об/мин.

После центрифугирования из всех пробирок, кроме пробирок Т, одновременно сливают надосадочную жидкость. Для удаления остатков жидкости пробирки опрокидывают на фильтровальную бумагу.

Все пробирки с осадками и пробирки Т помещают в гамма-счетчик и измеряют скорость счета в каждой пробирке. Время счета — одна минута.

7.7.3.2 За окончательный результат испытаний принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, рассчитанное до второго и округленное до первого десятичного знака.

7.7.3.3 Допускаемое расхождение между результатами двух параллельных определений при P = 0,95 не должно превышать 17 % по отношению к среднеарифметическому значению.

7.7.3.4 Допускаемое расхождение между результатами испытаний, проведенных в двух разных лабораториях, при P = 0,95 не должно превышать 20 % по отношению к среднеарифметическому значению.

7.7.4 Обработка результатов

7.7.4.1 При использовании счетчиков Гамма-800 или фирмы ЛКВ и соответствующей программы расчет концентрации инсулина автоматический.

В случае самостоятельного расчета количество инсулина в 1 см^3 разбавленного экстракта находят по калибровочной кривой. Для построения калибровочной кривой необходимо провести следующие расчеты.

Находят средние арифметические значения скоростей счета 125-инсулина для каждой пары пробирок (B).

Значение $У$ для каждой калибровочной и определяемой пробы вычисляют по формуле

$$Y = \frac{B}{B_0} \cdot 100, \quad (3)$$

где B — средняя скорость счета в пробирках, содержащих калибровочные пробы или анализируемые пробы, имп/мин;

B_0 — средняя скорость счета в пробирках, содержащих «нулевую» калибровочную пробу, имп/мин;

100 — коэффициент перевода в проценты.

Значение X вычисляют по формуле

$$X = \frac{B_0}{T} \cdot 100, \quad (4)$$

где B_0 — средняя скорость счета в пробирках, содержащих «нулевую» калибровочную пробу, имп/мин;

T — общая активность 125-инсулина, добавляемого в одну пробирку, характеризующая связывающую способность антисыворотки или процент связанной метки для нулевого счета в содержащих «нулевую» калибровочную пробу;

100 — коэффициент перевода в проценты.

После проведения расчетов в линейных координатах строят калибровочную кривую, откладывая на оси ординат значение $У$, полученное по формуле (3), а на оси абсцисс — значение X концентрации калибровочных проб инсулина в мкЕд/см^3, добавленного в одну пробирку. Для анализируемых проб экстракта поджелудочной железы на основании соответствующих значений, полученных по формуле (3), по калибровочному графику определяют концентрацию инсулина в 1 см^3 разбавленного раствора.

Массовую долю инсулина в поджелудочной железе $X_и$, Ед/кг, вычисляют по формуле

$$X_и = \frac{(C_x \cdot П_1) \cdot 2 \cdot V_1 \cdot V_2}{10 \cdot m \cdot 10^6}, \quad (5)$$

где C_x — концентрация инсулина, найденная по калибровочному графику для соответствующего разведения, мкЕд/см^3;

$П_1$ — степень разведения экстракта;

V_1 — общий объем экстракта после гомогенизации, см^3;

V_2 — общий объем объединенных экстрактов, см^3;

10 — объем гомогената, используемый для проведения дополнительной гомогенизации в стеклянном гомогенизаторе, см^3;

m — масса пробы измельченной поджелудочной железы, кг;

10^6 — коэффициент перевода единиц мкЕд/см^3 в Ед/кг.

7.7.4.2 За окончательный результат испытаний принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, рассчитанное до второго и округленное до первого десятичного знака.

7.7.4.3 Допускаемое расхождение между результатами двух параллельных определений при P = 0,95 не должно превышать 17 % по отношению к среднему арифметическому значению.

7.7.4.4 Допускаемое расхождение между результатами испытаний, проведенных в двух разных лабораториях, при P = 0,95 не должно превышать 20 % по отношению к среднему арифметическому значению.

7.8 Массу упаковочной единицы взвешивают на весах для статического взвешивания класса точности не ниже среднего (III), с ценой поверочного деления e = 50 г, наибольшим пределом взвешивания 100 кг или других весах с аналогичными техническими и метрологическими характеристиками. Пределы отрицательных отклонений от номинального количества в соответствии с ГОСТ 8.579.

7.9 При получении неудовлетворительных результатов хотя бы по одному из показателей качества проводят повторные испытания на удвоенной выборке, взятой из той же партии. При повторном получении неудовлетворительных результатов партия приемке не подлежит.

8 Транспортирование и хранение

8.1 Упакованные поджелудочные железы транспортируют при температуре воздуха не выше минус 20 °С всеми видами транспорта в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта, при наличии ветеринарного документа, соответствующего требованиям нормативных правовых актов, действующих на территории государства, принявшего стандарт.

8.2 Поджелудочные железы хранят в упакованном виде в камере хранения при температуре воздуха не выше минус 20 °С, относительной влажности воздуха от 95 % до 98 %. Колебания температуры воздуха в процессе хранения, перевозки и реализации не должны превышать 2 °С.

8.3 Срок годности устанавливает изготовитель.

Рекомендуемый срок годности* поджелудочных желез — не более 6 мес с момента производства при соблюдении условий хранения.

8.4 Транспортирование и хранение поджелудочных желез, отправляемых в районы Крайнего Севера и приравненные к ним местности, — по ГОСТ 15846.

* Данный срок годности, установленный в стандарте, является справочным.

Библиография

[1] ТР ТС 005/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности упаковки»

УДК 637.663:006.354 МКС 67.120.10

Ключевые слова: поджелудочная железа крупного рогатого скота и свиней, технические требования, протеолитическая активность, метод Лейлян-Фольгарда, инсулин, иммунореактивный метод

БЗ 8—2017/159

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 28.08.2017. Подписано в печать 01.09.2017. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68. Тираж 21 экз. Зак. 1581.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru