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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33427— 2015 (ISO 14902:2001)

КОРМА

Определение трипсинингибирующей активности в продуктах из сои

(ISO 14902:2001, Animal feeding stuffs — Determination of trypsin inhibitor activity of soya products, MOD)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП») на основе официального перевода на русский язык англоязычной версии международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Межгосударственным комитетом по стандартизации МТК 4 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 августа 2015 г. № 79-П)

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
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 2 октября 2015 г. № 1444-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33427—2015 (ISO 14902:2001) введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 Настоящий стандарт модифицирован по отношению к международному стандарту ISO 14902:2001 «Корма для животных. Определение активности ингибитора трипсина в продуктах из сои» («Animal feeding stuffs — Determination of trypsin inhibitor activity of soya products», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом ISO/TC 34/SC 10 «Корма для животных» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Уточненные отдельные слова, фразы, абзацы внесены в текст межгосударственного стандарта для приведения в соответствие с требованиями ГОСТ 1.5—2001, отраслевой терминологией и выделены курсивом. Дополнительные примечания и приложения выделены полужирным курсивом.

В настоящем стандарте заменены единицы измерения объема: «литр» на «дециметр кубический», «миллилитр» на «сантиметр кубический», для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001 (пункт 4.14.1).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта в соответствии с требованиями межгосударственной системы стандартизации и общепринятой в Российской Федерации отраслевой терминологией.

В настоящем стандарте ссылки на международные стандарты, используемые в примененном международном стандарте, заменены на межгосударственные стандарты, гармонизированные с международными.

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта приведено в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© Стандартинформ, 2016

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 . . . 2
4 *Сущность метода* . . . 2
5 Реактивы и растворы . . . 2
6 *Средства измерения, вспомогательное* оборудование . . . 3
7 Отбор проб . . . 4
8 Подготовка анализируемой пробы . . . 4
9 Проведение испытаний . . . 4
10 *Обработка результатов* . . . 5
11 Прецизионность . . . 6
12 Протокол испытания . . . 6
Приложение А (обязательное) Схема разведения экстракта пробы . . . 7
Приложение Б *(справочное)* Результаты межлабораторных испытаний . . . 9
Приложение ДА (справочное) Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта . . . 10
Библиография . . . 12

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА

Определение трипсинингибирующей активности в продуктах из сои

Feeds. Determination of trypsin inhibitor activity of soya products

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт *распространяется на корма* и устанавливает метод определения трипсинингибирующей активности (ТИА) в продуктах из сои.

Значения активности ингибитора трипсина являются показателем степени тепловой обработки этих продуктов.

Нижний предел определения активности ингибитора трипсина составляет 0,5 мг/г.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

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

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 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-1—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения*

*ГОСТ ИСО 5725-2—2003** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений*

ГОСТ ISO 6498—2014 Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

*ГОСТ 13496.0—80*** Комбикорма, сырье. Методы отбора проб*

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

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

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002.

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 6497—2011 «Корма для животных. Отбор проб».

Издание официальное

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или 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 применен следующий термин *с соответствующим* определением:

3.1 **трипсинингибирующая активность;** ТИА: Отношение массы трипсина, ингибируемого по методике, описанной в настоящем стандарте, к массе *навески* пробы.

Примечание — Трипсинингибирующую активность выражают в миллиграммах на грамм.

4 *Сущность метода*

Сущность метода заключается в экстракции ингибитора трипсина из *навески* при 9,5 ед. pH, ингибировании активности трипсина, *используя* в качестве субстрата бензоил-L-аргинин-*p*-нитроанилид, определении оставшейся активности трипсина путем спектрофотометрического измерения высвобожденного *p*-нитроанилина и вычислении трипсинингибирующей активности.

5 *Реактивы и растворы*

5.1 Реактивы

5.1.1 Вода *дистиллированная по ГОСТ 6709.*

5.1.2 Натрия гидроокись *по ГОСТ 4328.*

5.1.3 Кислота соляная *по ГОСТ 3118.*

5.1.4 Кислота уксусная *ледяная по ГОСТ 61.*

5.1.5 Кальций хлористый двухводный, $CaCl_2\ 2H_2O$, *с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.*

5.1.6 Трипсин крупного рогатого скота.

5.1.7 Бензоил-L-аргинин-*p*-нитроанилид (L-БАРА) *с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.*

5.1.8 Трис-(гидроксиметил) аминометан (Трис) *с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.*

5.1.9 Диметилсульфоксид (ДМСО) *с содержанием основного вещества не менее 99,5 %.*

Примечание — Допускается использование реактивов аналогичной или более высокой квалификации, изготовленных по другой нормативной документации.

5.2 Приготовление растворов

5.2.1 Приготовление раствора гидроокиси натрия *c*(NaOH) = 0,01 моль/*дм*^{3}

В мерной колбе вместимостью 1000 см^3 растворяют 0,4 г гидроокиси натрия и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

5.2.2 Приготовление раствора соляной кислоты *c*(HCl) = 6 моль/*дм*^{3}

Раствор готовят смешиванием соляной кислоты и дистиллированной воды в соотношении 1:1 по объему.

Срок хранения раствора не ограничен.

5.2.3 Приготовление раствора соляной кислоты *c*(HCl) = 1 моль/*дм*^{3}

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 83 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой (см. 5.1.1).

Срок хранения раствора не ограничен.

5.2.4 Приготовление раствора соляной кислоты *c*(HCl) = 0,1 моль/*дм*^{3}

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 пипеткой вносят 8,3 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой (см. 5.1.1).

Примечание — *Допускается готовить раствор из стандарт-титра соляной кислоты молярной концентрации с(HCl) = 0,1 моль/дм^3 или разбавлением раствора соляной кислоты* с(HCl) = 1 моль/дм^3 *в 10 раз.*

Срок хранения раствора не ограничен.

5.2.5 *Приготовление* раствора соляной кислоты с(HCl) = 0,001 моль/*дм*^{3}

Готовят разбавлением в 100 раз раствора соляной кислоты с(HCl) = 0,1 моль/*дм*^{3}.

Срок хранения раствора не ограничен.

5.2.6 *Приготовление* уксусной кислоты с(CH_3COOH) = 5,3 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 303 см^3 ледяной уксусной кислоты и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора не ограничен.

5.2.7 *Приготовление* раствора хлорида кальция в соляной кислоте

Растворяют 735 мг *двухводного* хлористого кальция (*см. 5.1.5*) в *1000 см^3 раствора* соляной кислоты (*см. 5.2.5*)ain и проверяют pH раствора, который должен быть равен (3,0 ± 0,1) ед. pH.

Срок хранения раствора не ограничен.

5.2.8 *Приготовление* основного раствора трипсина

Трипсин (*см. 5.1.6*), *перед использованием заранее достают из холодильника и оставляют на некоторое время для нагревания до температуры окружающей среды.*

Растворяют 27,0 мг трипсина в растворе хлорида кальция (*см. 5.2.7*) в мерной колбе *вместимостью* 100 *см*^{3} (*см.* 6.1) и доводят до метки раствором хлорида кальция.

Срок хранения раствора *трипсина* при *комнатной температуре* — в течение пяти дней, при необходимости хранения раствора более пяти дней его хранят в холодильнике *при температуре* (*4* ± *2*) *°С (см.* 6.3).

5.2.9 *Приготовление* рабочего раствора трипсина

В мерную колбу *вместимостью* 100 *см*^{3} (*см.* 6.1) вносят 5 см^3 основного раствора трипсина (*см. 5.2.8*) и доводят до метки раствором хлорида кальция (*см. 5.2.7*).

Раствор используют в день приготовления.

5.2.10 *Приготовление буферного раствора*

В *мерной колбе вместимостью 1000 см^3* растворяют 6,05 г Трис (*см. 5.1.8*) и 735 мг *двухводного* хлористого кальция (*см. 5.1.5*) в 900 *см^3 дистиллированной* воды (*см. 5.1.1*). Регулируют pH *раствора* до (8,2 ± 0,1) ед. pH с помощью соляной кислоты (*см. 5.2.2*). Объем доводят дистиллированной водой до метки.

Срок хранения раствора 2 мес.

5.2.11 *Приготовление* реактива L-ВАРА

Растворяют 60 мг L-ВАРА (*см. 5.1.7*) в 1 *см*^{3} ДМСО (*см. 5.1.9*) в мерной колбе *вместимостью* 100 *см*^{3} (*см.* 6.1) и доводят до метки буферным раствором (*см. 5.2.10*).

Раствор готовят в день использования.

6 *Средства измерения, вспомогательное* оборудование

Используют обычное лабораторное оборудование, в частности *следующее*:

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

6.2 Кюветы *с толщиной поглощающего свет слоя* 10 мм.

6.3 Холодильник, поддерживающий температуру (4 ± 2) °С.

6.4 pH-метр *с пределом допускаемой* погрешности ±0,05 ед. pH.

6.5 Устройство для смешивания.

6.6 Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения на длине волны 410 нм.

6.7 Секундомер.

6.8 Баня водяная с циркуляционным насосом, поддерживающая температуру (37 ± 0,25) °С.

6.9 Мельница, снабженная ситом *с отверстиями диаметром* 0,5 мм.

6.10 Центрифуга *лабораторная* с частотой вращения не менее 1500 об/мин.

6.11 Центрифужные пробирки.

6.12 Колбы конические Кн-2-100-42-ТХС по ГОСТ 25336.

6.13 Весы неавтоматического действия с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,001 г по ГОСТ OIML К 76-1 или нормативному документу, действующему на территории государства, принявшего данный стандарт.

6.14 Пипетки 1(2)–1(1а, 2, 2а)–1(2)–1(2, 5, 10) по ГОСТ 29227.

6.15 Цилиндры 1(2, 3, 4)–50(100, 500)–2 по ГОСТ 1770.

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

Примечание — Допускается использование других средств измерений и оборудования с метрологическими характеристиками, не хуже указанных.

7 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 13496.0.

Поступающая в лабораторию проба *должна быть представительной,* не поврежденной и *не претерпевшей изменений во время* транспортирования и хранения.

Проба *должна* храниться *в условиях, предотвращающих* ее *порчу или* изменение состава.

8 Подготовка анализируемой пробы

Анализируемую пробу готовят в соответствии с *ГОСТ ISO 6498* со следующим дополнением: репрезентативную часть пробы размалывают с помощью *мельницы* (*см.* 6.9) с минимальным нагреванием. Размолотую пробу тщательно перемешивают.

9 Проведение испытаний

9.1 Количество испытаний

Для каждой пробы выполняют два *параллельных* определения *трипсинингибирующей активности* в соответствии с 9.2, 9.3 и 9.5 в условиях повторяемости.

9.2 Экстракция

Навеску массой (1,000 ± 0,001) г помещают в коническую колбу *вместимостью* 100 *см*^{3} *(см. 6.12),* добавляют 50 *см*^{3} раствора *гидроокиси* натрия *(см. 5.2.1).*

Доводят значение pH полученного раствора до (9,5 ± 0,1) ед. pH раствором соляной кислоты (*см. 5.2.3 или 5.2.4*), при этом электрод промывают минимальным количеством *дистиллированной* воды *(см. 5.1.1).*

Закрывают коническую колбу *пробкой* и оставляют на ночь (от 15 до 24 ч) в холодильнике (*см.* 6.3). Также в холодильник помещают *дистиллированную* воду в количестве, необходимом для проведения экстракции проб.

Содержимое колбы переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 (*см.* 6.1), *доводят объем раствора* до метки *дистиллированной* водой из холодильника, перемешивают *и оставляют на 15 мин.*

Подготовленный экстракт используют в течение рабочего дня при хранении в холодильнике.

Надосадочную часть экстракта используют для дальнейшего разбавления *дистиллированной* водой комнатной температуры. Степень разбавления зависит от ожидаемой величины ТИА.

9.3 Разведение экстракта

Оценивают значение ТИА пробы и готовят три различных разведения экстракта на основе схемы *разведения,* представленной в таблице А.1 *приложения А,* так, чтобы в результате измерения ТИА (*см.* 9.5) хотя бы одно из трех *значений* процентного содержания ингибитора было бы получено в пределах от 40 % до 60 %.

Если ни один из трех результатов не входит в этот диапазон, то следует подобрать другое разведение и повторить процедуру.

9.4 Проверка активности трипсина

Активность трипсина (см. 5.1.6) проверяют в каждой партии. Для этого готовят *контрольный (пробирка № 1)* и *анализируемый (пробирка № 2) растворы трипсина.*

В центрифужные пробирки *(см.* 6.11) *№ 1* и *№ 2 последовательно вносят по 5 см*^{3} реактива L-ВАРА (*см. 5.2.11*), по 3 см^3 дистиллированной воды, в пробирку *№ 1* добавляют 1 см^3 раствора уксусной кислоты (см. *5.2.6*).

Содержимое пробирок перемешивают с помощью устройства для смешивания (*см.* 6.5) и помещают пробирки на водяную баню (*см.* 6.8) на 10 мин.

Затем в каждую пробирку добавляют по 1 *см*^{3} рабочего раствора трипсина (*см. 5.2.9*). Содержимое пробирок снова перемешивают с помощью устройства для смешивания (*см.* 6.5) и помещают центрифужные пробирки обратно на водяную баню (*см.* 6.8). Через (600 ± 5) с в пробирку *№ 2* добавляют по 1 *см*^{3} *раствора* уксусной кислоты (*см. 5.2.6*).

Содержимое пробирок перемешивают с помощью устройства для смешивания и центрифугируют в течение 10 мин при 1500 об/мин.

Эти растворы остаются стабильными в течение 2 ч.

Измеряют оптическую плотность *надосадочной жидкости в каждой пробирке* относительно *дистиллированной* воды на спектрофотометре (*см.* 6.6) при длине волны 410 нм в кюветах (*см.* 6.2).

Разница между оптической плотностью *анализируемого раствора трипсина* и оптической плотностью *контрольного раствора трипсина* (A_r — A_{br}) должна быть (0,380 ± 0,050) *е. о. п.* Если условие не выполнено, то используют новый трипсин.

9.5 Измерение трипсинингибирующей активности

Для каждого разведения экстракта пробы (*см.* 9.3) готовят *анализируемый и контрольный растворы* пробы. *Подготовку анал*изируемых растворов пробы и соответствующих *контрольных* растворов пробы проводят *параллельно*, включая центрифугирование.

В центрифужные пробирки (по две пробирки для раствора трипсина и для каждого разведения экстракта пробы) последовательно *вносят по 5 см*^{3} реактива L-BAPA (*см. 5.2.11*), в пробирки с растворами трипсина по 3 см^3 дистиллированной воды, в пробирки с растворами проб — по 1 см^3 экстракта проб и по 2 см^3 дистиллированной воды. В пробирки, *в которых готовят* контрольные растворы трипсина и пробы, вносят по 1 см^3 раствора уксусной кислоты.

Содержимое пробирок перемешивают с помощью устройства для смешивания (*см.* 6.5) и помещают пробирки в водяную баню (*см.* 6.8) на 10 мин.

Затем в каждую пробирку добавляют по 1 *см*^{3} рабочего раствора трипсина (*см.* 5.12). Содержимое пробирок снова перемешивают с помощью устройства для смешивания и помещают центрифужные пробирки обратно в водяную баню. Через (600 ± 5) с *в* пробирки, *в которых готовят анализируемые растворы трипсина и пробы,* добавляют по 1 *см*^{3} *раствора* уксусной кислоты (*см. 5.2.6*).

Содержимое пробирок перемешивают с помощью устройства для смешивания (*см.* 6.5). Затем *все* пробирки с растворами центрифугируют в центрифуге (*см.* 6.10) в течение 10 мин при 1500 об/мин.

Полученные растворы остаются стабильными в течение 2 ч.

Измеряют оптическую плотность *надосадочной жидкости во всех пробирках* на спектрофотометре (*см.* 6.6) при длине волны 410 нм в кюветах (*см.* 6.2).

10 *Обработка результатов*

10.1 Вычисление содержания ингибитора *трипсина* в *анализируемом растворе пробы*

Содержание ингибитора трипсина *i*, %, в *анализируемом растворе пробы* вычисляют по формуле

$$i = \frac{(A_r - A_{br}) - (A_s - A_{bs})}{(A_r - A_{br})} \cdot 100, \qquad (1)$$

где A_r — оптическая плотность *анализируемого раствора трипсина, е. о. п.*;

A_{br} — оптическая плотность *контрольного раствора трипсина, е. о. п.*;

A_s — оптическая плотность *анализируемого раствора пробы, е. о. п.*;

A_{bs} — оптическая плотность *контрольного раствора пробы, е. о. п.*;

100 — коэффициент пересчета в проценты.

10.2 Вычисление коэффициента разведения экстракта пробы

Коэффициент разведения экстракта пробы f_1 вычисляют по формуле

$$f_1 = \frac{100 \cdot 100}{V}, \qquad (2)$$

где 100 — объем экстракта анализируемой пробы (см. 9.2), см^3*;*

100 — объем разведенного экстракта анализируемой пробы, см^3*;*

V — объем, полученный на основе данных в соответствии с приложением А, таблица А.1, см^3.

10.3 Вычисление трипсинингибирующей активности

Трипсинингибирующая активность *ТИА, мг/г,* вычисляют по формуле

$$ТИА = \frac{i}{100} \cdot \frac{m_1 \cdot f_1 \cdot f_2}{m_0}, \quad (3)$$

где i — *содержание ингибитора трипсина в анализируемом растворе пробы, %, вычисляемое по формуле (1)*;

m_1 — масса трипсина, мг;

f_1 — *коэффициент* разведения экстракта пробы, вычисленный *по формуле (2)*;

f_2 — *поправочный* коэффициент, равный $2{,}8 \cdot 10^{-4}$, основанный на чистоте трипсина (56 %, см. [1] и [2]) и разбавлении трипсина согласно 5.2.8 и 5.2.9;

100 — *коэффициент перевода из процентов;*

m_0 — масса *навески* пробы, г.

Полученный результат округляют до 0,1 мг/г.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Результаты межлабораторных испытаний в отношении прецизионности метода *определения трипсинингибирующей активности приведены* в приложении Б. Значения, полученные при проведении этих испытаний, не применимы к диапазонам концентраций и *пробам*, отличающимся от *описанных в настоящем стандарте*.

11.2 Повторяемость (сходимость)

Абсолютное расхождение между результатами двух *отдельных* независимых испытаний, полученными одним и тем же методом на одной *лабораторной пробе* в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором на одном и том же *экземпляре* оборудования *в течение короткого промежутка времени*, не должно превышать предел повторяемости *r, приведенный* в таблице *1,* более чем в 5 % случаев.

Таблица *1* — Предел повторяемости *r* и предел воспроизводимости *R*

В миллиграммах на грамм

Наименование анализируемой пробы	*Трипсинингибирующая активность*	*Предел повторяемости r*	*Предел воспроизводимости R*
Соя 1	1,53	0,18	1,11
Соя 2	1,30	0,09	2,11
Обжаренная соя	2,08	1,03	1,88

11.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух *отдельных* испытаний, полученными одним и тем же методом на *идентичных пробах* в разных лабораториях разными операторами на различных *экземплярах* оборудования, не должно превышать предел воспроизводимости *R*, приведенный в таблице *1,* более чем в 5 % случаев.

12 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать в себя следующее:

а) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

б) используемый метод отбора проб, если известен;

в) используемый метод *испытания* со ссылкой на *настоящий* стандарт;

г) все *обстоятельства, не указанные в настоящем* стандарте или *рассматриваемые* как необязательные, которые могли повлиять на результат(ы) испытания;

д) полученный(е) результат(ы) испытания, *среднеарифметическое значение* двух испытаний, если проверена повторяемость.

Приложение А
(обязательное)

Схема разведения экстракта пробы

В таблице А.1 приведены схемы разведения *экстракта пробы.* На рисунках А.1 и А.2 показаны примеры графического представления схемы разведения.

Т а б л и ц а А.1 — Схема разведения *экстракта пробы*

Предполагаемая ТИА, мг/г	Теоретические разведения экстракта, *см*^{3}/100 *см*^{3}, при процентном содержании ингибитора трипсина		
	40 %	50 %	60 %
0,5	61	76	91
1,0	30	38	45
1,5	20	25	30
2,0	15	19	23
2,5	12	15	18
3,0	10	13	15
3,5	8,6	11	13
4,0	7,6	9,5	11
4,5	6,7	8,4	10
5,0	6,0	7,6	9,1
6	5,0	6,3	7,6
7	4,3	5,4	6,5
8	3,8	4,7	5,7
9	3,4	4,2	5,0
10	3,0	3,8	4,5
11	2,7	3,4	4,1
12	2,5	3,2	3,8
13	2,3	2,9	3,5
14	2,2	2,7	3,2
15	2,0	2,5	3,0
16	1,9	2,4	2,8
17	1,8	2,2	2,7
18	1,7	2,1	2,5
19	1,6	2,0	2,4
20	1,5	1,9	2,3
25	1,2	1,5	1,8



Рисунок А.1 — Соотношение между трипсинингибирующей активностью и теоретическим разбавлением пробы

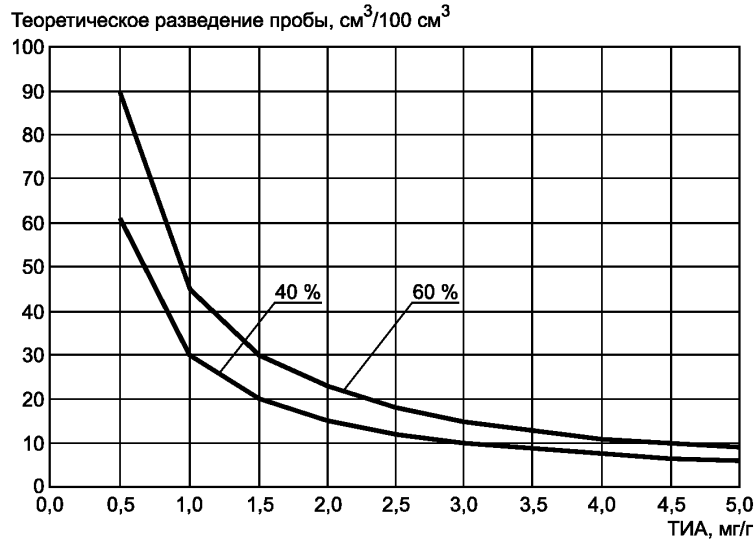

Рисунок А.2 — Фрагмент рисунка А.1

Приложение Б
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

Прецизионность метода была установлена в 1998 г в результате межлабораторных испытаний, выполненных в соответствии с *ГОСТ ИСО 5725-1 и ГОСТ* ИСО 5725-2 для определения воспроизводимости. Для определения предела повторяемости, семь лабораторий проводили *испытания* пробы сои в двух повторностях. Для определения предела воспроизводимости, испытания двух проб сои и одного образца *обжаренной сои* были проведены семью лабораториями.

Статистические результаты межлабораторных испытаний приведены в таблице Б.1.

Таблица Б.1 — Статистические результаты межлабораторных испытаний

Наименование показателя	*Значение показателя для* проб*		
	1	2	3
Количество лабораторий	7	7	7
Количество лабораторий после удаления выбросов	7	7	7
Среднее значение активности ингибитора трипсина, мг/г	1,30	1,53	1,88
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мг/г	0,03	0,06	0,37
Коэффициент вариации повторяемости, %	2,31	4,18	1,03
Предел повторяемости r ($r = 2,8 \times s_r$), мг/г	0,09	0,18	1,03
Стандартное отклонение воспроизвомости S_R, г/г	0,75	0,40	0,67
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	57,7	25,9	35,7
Предел воспроизводимости R ($R = 2,8 \times S_R$), мг/г	2,11	1,11	1,88
* Пробы 1 и 2: соя; проба 3: обжаренная соя.			

Приложение ДА
(справочное)

Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта

Таблица ДА.1

Структура международного стандарта		*Структура межгосударственного стандарта*	
Подраздел	*Пункт*	*Подраздел*	*Пункт*
Раздел 5		*Раздел 5*	
5.1	—	*5.1*	*5.1.1*
5.2	—		*5.1.2*
5.3	—		*5.1.3*
5.4	—		*5.1.4*
5.5	—		*5.1.5*
5.6	—		*5.1.6*
5.6	—		*5.1.7*
5.7	—		*5.1.8*
5.8	—		*5.1.9*
5.9	—	*5.2*	*5.2.1*
5.10	—		*5.2.2*
5.11	—		*5.2.3*
5.12	—		*5.2.4*
5.13	—		*5.2.5*
5.14	—		*5.2.6*
5.15	—		*5.2.7*
5.16	—		*5.2.8*
5.17	—		5.2.9
—	—		*5.2.10*
—	—		*5.2.11*
Раздел 6		*Раздел 6*	
6.1	—	*6.1*	—
6.2	—	6.2	—
6.3	—	*6.3*	—
6.4	—	*6.4*	—
6.5	—	*6.5*	—
6.6	—	*6.6*	—
6.6	—	*6.6*	—
6.7	—	*6.7*	—
6.8	—	*6.8*	—
6.9	—	*6.9*	—
6.10	—	*6.10*	—
6.11	—	*6.11*	—
—	—	*6.12*	—

Окончание таблицы ДА.1

Структура международного стандарта		*Структура межгосударственного стандарта*	
Подраздел	*Пункт*	*Подраздел*	*Пункт*
—	—	*6.13*	—
Раздел 6		*Раздел 6*	
Раздел 7		*Раздел 7*	
Раздел 8		*Раздел 8*	
Раздел 9		*Раздел 9*	
Раздел 10		*Раздел 10*	
Раздел 11		*Раздел 11*	
Раздел 12		*Раздел 12*	
Приложение	*A*	*Приложение*	*А*
	B		*Б*
	—		*ДА*
Библиография		*Библиография*	

П р и м е ч а н и я

1 Сравнение структур стандартов приведено, начиная с раздела 5, так как предыдущие разделы стандартов и их иные структурные элементы (за исключением предисловия) идентичны.

2 Раздел 5 разделен на подразделы 5.1 «Реактивы» и 5.2 «Приготовление растворов».

3 В раздел 6 настоящего стандарта введены подразделы с неуказанным в международном стандарте оборудованием.

4 В соответствии с ГОСТ 1.5—2001 и ГОСТ 1.3—2014 в настоящий стандарт дополнен приложением ДА «Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта».

Библиография

[1] Kakade M. L., Simons N., Liener I. E. An Evaluation of Natural vs. synthetic Substrates for Measuring the Antitryptic Activity of Soybean Samples. Cereal Chem., 46, 1969, pp. 518—526

[2] Smith C., Van Megen W., Twaalfhoven L., Hitchcock C. The Determination of Trypsin Inhibitor Levels in Foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.,* 31, 1980, pp. 341—350

УДК 636.085.3:006.354 МКС 65.120 MOD

Ключевые слова: корма, соя, трипсин, ингибитор, активность, спектрофотометр, метод, бензоил-L-аргинин-*p*-нитроанилид, экстракция

Редактор *Н.Н. Мигунова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.И. Варенцова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 02.12.2015. Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,45. Тираж 41 экз. Зак. 4355.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru