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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 15174— 2014

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Микробные коагулянты. Определение общей молокосвертывающей активности

(ISO 15174:2012, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

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 сертификации» на основе аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 мая 2014 г. № 67-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
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 июля 2014 г. № 707-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 15174—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 15174:2012 Milk and milk products — Microbial coagulants — Determination of total milk-clotting activity (Молоко и молочные продукты. Микробные коагулянты. Определение общей молокосвертывающей активности).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 5 «Молоко и молочные продукты» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO) и Международной федерацией по молочному животноводству (IDF).

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, имеется в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

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, 2015

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

Введение V
1 Область применения 1
2 Принцип 1
3 Реактивы и материалы 1
4 Оборудование и химическая посуда 3
5 Отбор проб 3
6 Приготовление пробы для испытания 3
6.1 Жидкий микробный коагулянт 3
6.2 Порошкообразный микробный коагулянт 3
7 Методика 4
7.1 Приготовление субстрата 4
7.2 Приготовление раствора контрольного образца микробного коагулянта 4
7.3 Приготовление испытуемого раствора микробного коагулянта 4
7.4 Свертывание 5
8 Расчет и выражение результатов 5
8.1 Расчет 5
8.2 Выражение результатов 6
9 Прецизионность 6
9.1 Межлабораторное испытание 6
9.2 Повторяемость 6
9.3 Воспроизводимость 6
10 Протокол испытаний 7
Приложение А (справочное) Межлабораторное испытание 8
Библиография 9

Введение

Микробные коагулянты получают из различных микробиологических источников, наиболее распространенными являются *Rhizomucor miehei* (КФ 3.4.23.23), *R. pusillus* (КФ 3.4.23.23) и *Cryphonectria parasitica*, ранее называемый *Endothia parasitica* (КФ 3.4.23.22).

Каждый их этих коагулянтов имеет свои собственные характеристики, что касается общей молокосвертывающей активности, и свойства, связанные с сыроделием. Существуют различия в чувствительности к воздействию температуры, pH, ионов кальция, а также во влиянии на реологические свойства образованного молочного геля.

Поэтому очень важно, исходя из практических и экономических соображений, иметь международный метод определения общей молокосвертывающей активности микробных коагулянтов относительно признанного на международном уровне контрольного образца. Так по практическим причинам было решено использовать коагулянт, полученный с использованием *R. miehei,* в качестве контрольного образца микробных коагулянтов для всех коагулянтов этого типа.

Этот метод соответствует методу определения относительной молокосвертывающей активности говяжьего сычужного фермента, описанного в ISO 11815|IDF 157.

Качественное определение микробных коагулянтов в пробе можно выполнять в соответствии с [7], приложение А. В случае смеси различных молокосвертывающих ферментов невозможно осуществить правильное определение общей молокосвертывающей активности в пробе.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Микробные коагулянты. Определение общей молокосвертывающей активности

Milk and milk products.
Microbial coagulants. Determination of total milk-clotting activity

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод сравнения общей молокосвертывающей активности пробы микробного коагулянта с молокосвертывающей активностью контрольного образца микробного коагулянта в стандартном молочном субстрате, приготовленном с использованием раствора хлорида кальция массовой концентрации 0,5 г/дм^3 (pH = 6,50 ед.).

2 Принцип

Определяют время, необходимое для видимого образования хлопьев в стандартном молочном субстрате, приготовленном с использованием раствора хлорида кальция массовой концентрации 0,5 г/дм^3 (pH = 6,50 ед.) и сравнивают при идентичных условиях продолжительность свертывания субстрата пробой микробного коагулянта с продолжительностью свертывания субстрата контрольным образцом микробного коагулянта с известной молокосвертывающей активностью.

3 Реактивы и материалы

Если не указано иное, используют реактивы только признанного аналитического качества и дистиллированную или деминерализованную воду, либо воду эквивалентной чистоты.

3.1 Буферный раствор, pH 5,5. В мерную колбу вместимостью 1 дм^3 помещают 10,0 г тригидрата ацетата натрия ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$), добавляют пипеткой (4.1) 10,0 см^3 раствора уксусной кислоты молярной концентрации 1 моль/дм^3 (CH_3COOH) и перемешивают. Доводят объем водой до метки и перемешивают. При необходимости доводят pH смеси до 5,5 ед. с помощью раствора уксусной кислоты молярной концентрации 1 моль/дм^3 или раствора ацетата натрия молярной концентрации 1 моль/дм^3.

3.2 Основной раствор хлорида кальция, ($CaCl_2$) = 500 г/дм^3. Используют растворы хлорида кальция точной массовой концентрации 500 г/дм^3 и заявленной фактической плотности, имеющиеся в продаже[1)]. Раствор хранят согласно инструкциям производителя.

Перед применением доводят температуру основного раствора хлорида кальция до комнатной (18 °С—22 °С). Проверяют концентрацию раствора хлорида кальция путем титрования раствором EDTA (этилендиаминтетрауксусной кислоты) один раз в год.

[1)] Chr. Hansen's A/S, Hvidovre, Denmark является примером подходящего поставщика. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает одобрения этого поставщика со стороны ISO или IDF.

Издание официальное

3.3 Рабочий раствор хлорида кальция, ρ ($CaCl_2$) = 0,5 г/дм^3. На основании плотности основного раствора хлорида кальция (3.2) рассчитывают массу, необходимую для получения в рабочем растворе точной массовой концентрации хлорида кальция 0,5 г/дм^3.

Масса раствора должна быть эквивалентна добавлению 2,00 см^3 основного раствора с точной массовой концентрацией ρ ($CaCl_2$) = 500 г/дм^3, при этом масса основного раствора составляет около 2,70 г.

Для приготовления рабочего раствора хлорида кальция рекомендуется взвешивание основного раствора хлорида кальция (3.2), поскольку вязкий раствор трудно отбирать пипеткой.

В мерной колбе с одной меткой вместимостью 2000 см^3 взвешивают 2,70 г основного раствора хлорида кальция (3.2) с точностью до 0,01 г, с точно известной концентрацией при температуре 18 °С—22 °С. Доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хлорида кальция готовят в день его использования.

Примечание — Допускается готовить промежуточный раствор хлорида кальция концентрацией 50 г/дм^3 и в дальнейшем разбавлять его перед использованием.

3.4 Сухое молоко низкотемпературного сгущения и распылительной сушки с пониженным содержанием жира, с хорошим сычужным свертыванием и хорошего бактериологического качества.

Примечание — Соответствующее этим требованиям сухое молоко низкотемпературного сгущения и распылительной сушки с пониженным содержанием жира имеется в продаже[1)].

3.5 Порошкообразный контрольный образец микробного коагулянта (*Rhizomucor miehei*), в стеклянных ампулах. Точное значение общей молокосвертывающей активности маркируют на ампулах.

Хранят порошкообразный контрольный образец микробного коагулянта в темноте при температуре минус 18 °С в защищенном от влаги месте. В течение коротких промежутков времени, например, при транспортировании, порошок может храниться при температуре окружающей среды.

Порошкообразный контрольный образец микробного коагулянта является первичным контрольным образцом; можно приготовить вторичный жидкий контрольный образец и использовать его в том случае, если гарантируется получение одинаковых результатов.

Общая молокосвертывающая активность международного порошкообразного контрольного образца микробного коагулянта *(R. miehei)* — это величина активности, установленная относительно первой партии международного порошкообразного контрольного образца сычужного фермента из желудка телят, который, как было определено, содержит 1000 IMCU/г (см. [6]).

Примечание — Общую молокосвертывающую активность выражают в процентах относительно среднеарифметического значения результатов испытаний.

Общую молокосвертывающую активность порошкообразного контрольного образца микробного коагулянта маркируют на стеклянных ампулах и/или заявляют в предусмотренном сертификате. Это необходимо для будущих препаратов микробных контрольных образцов, активность которых должна быть установлена относительно предыдущей партии микробного контрольного образца.

Примечание — Общую протеолитическую (молокосвертывающую) активность порошкообразного контрольного образца микробного коагулянта проверяют каждый второй год альтернативным методом, например, на синтетическом гексапептидном субстрате NIZO[2)].

Международный порошкообразный контрольный образец микробного коагулянта доступен для приобретения в DSM Food Specialties[3)].

[1)] Cecalait, Poligny, France является примером подходящего поставщика. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает одобрения этого поставщика со стороны ISO или IDF.

[2)] NIZO Food Research BV, Ede, Netherlands является примером подходящего поставщика. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает одобрения этого поставщика со стороны ISO или IDF.

[3)] DSM Food Specialties, Dairy Ingredients Group, Delft, Netherlands является примером подходящего поставщика. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает одобрения этого поставщика со стороны ISO или IDF.

4 Оборудование и химическая посуда

Используют обычное лабораторное оборудование и, в частности, указанное ниже.

4.1 Микропипетка или любая другая пипетка, со скоростью истекания 0,5 $см^3/с$ при повторяемости 0,2 % или выше.

4.2 Пипетки с одной меткой, для подачи соответствующих объемов [1], класс А.

Допускается для разбавления коагулянтов использовать разбавитель (например, разбавитель Гамильтона) с такой же прецизионностью. Для подачи субстрата также можно использовать шприц или дозатор с повторяемостью 0,4 %.

4.3 Мерные колбы с одной меткой, требуемой вместимости [3], класс А.

4.4 Термометр, калиброванный, градуированный от 20 °С до 45 °С, с точностью до ±0,1 °С.

4.5 pH-метр, пределы допускаемого значения основной (абсолютной) погрешности преобразователя не более 0,01 ед. pH.

4.6 Весы аналитические, обеспечивающие точность взвешивания с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ±1 мг.

4.7 Секундомер, с ценой деления не более 1 с.

4.8 Колбы или пробирки для испытания молока на свертывание соответствующей вместимости (см. 7.4).

4.9 Баня водяная с терморегулятором, позволяющим поддерживать температуру (32 ± 1) °С, с отклонением от заданной температуры ±0,2 °С. Баню следует оборудовать следующими приспособлениями.

4.9.1 Электродвигатель, к вращающемуся валу которого может быть присоединена колба или пробирка (4.8), способный вращаться под углом примерно 30° к поверхности воды в водяной бане.

Примечание — Частота вращения не существенна для настоящего стандарта. Пригодна частота вращения от 2 до 4 об/мин.

4.9.2 Электрическая лампа, эффективно освещающая колбу или пробирку (4.8).

Примечание — Для улучшения визуального наблюдения за процессом свертывания молока в колбе или пробирке можно использовать экран с темным фоном, помещенный в водяную баню.

5 Отбор проб

Отбор проб не включен в метод, установленный в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приводится для жидкого микробного коагулянта (6.1) в [2] (раздел 9) и для порошкообразного микробного коагулянта (6.2) в [2] (раздел 13).

В лабораторию доставляют представительную пробу, которая не была подвергнута изменению во время транспортирования или хранения.

До испытания пробы хранят в темноте при температуре от 0 °С до 5 °С.

6 Приготовление пробы для испытания

6.1 Жидкий микробный коагулянт

Анализируемую пробу перемешивают с образованием завихрения, избегая образования пены. До приготовления испытуемого раствора коагулянта (7.3) анализируемую пробу доводят до комнатной температуры (18 °С—22 °С).

Жидкий коагулянт довольно вязкий. При отборе пробы пипеткой используют рекомендуемую методику. Допускается делать точные и прецизионные разбавления, особенно для коагулянтов высокой концентрации. Это достигается с помощью взвешивания жидких проб на аналитических весах и расчета их объема в кубических сантиметрах путем деления их массы на плотность используемого коагулянта.

6.2 Порошкообразный микробный коагулянт

Анализируемую пробу тщательно перемешивают для получения однородного порошка. Перед приготовлением испытуемого раствора коагулянта (7.3) анализируемую пробу доводят до комнатной температуры (18 °С—22 °С).

Примечание — Порошкообразные продукты могут быстро разделяться.

Учитывают массу проб(ы) для анализа, отбираемых(ой) от пробы для испытания. Отбирают пробы для анализа массой от 3 до 5 г. Однако если требуется анализировать неоднородные пробы для испытания и получить точные результаты, необходимо увеличить массу пробы для анализа.

7 Методика

7.1 Приготовление субстрата

Мерную колбу с одной меткой вместимостью 1000 см^3 (4.3) заполняют до метки рабочим раствором хлорида кальция (3.3).

В стакан вместимостью 2000 см^3 с точностью до 0,1 г отвешивают 110 г сухого молока низкотемпературного сгущения и распылительной сушки с пониженным содержанием жира (3.4). К сухому молоку в стакане добавляют 100 см^3 рабочего раствора хлорида кальция. Перемешивают вручную для получения однородной смеси.

Затем к содержимому стакана добавляют оставшиеся 900 см^3 рабочего раствора хлорида кальция, дав возможность раствору стечь полностью. Перемешивают полученный субстрат на магнитной мешалке в течение 30 мин, не допуская образования пены.

Оставляют полученный субстрат в темноте при комнатной температуре на 30 мин. При необходимости субстрат хранят в темноте при комнатной температуре не более 4 ч или охлажденным в течение дня приготовления.

Примечание — pH приготовленного субстрата равняется приблизительно 6,50. Значение pH не является существенным и не требует регулирования.

7.2 Приготовление раствора контрольного образца микробного коагулянта

7.2.1 Раствор контрольного образца микробного коагулянта

Порошкообразный контрольный образец микробного коагулянта (3.5) растворяют согласно следующей методике.

Чтобы избежать попадания влаги в порошок необходимо удостовериться в том, что перед открытием стеклянная ампула с порошкообразным контрольным образцом микробного коагулянта находится при комнатной температуре (18 °С— 22 °С).

Открывают ампулу и взвешивают с точностью до 1 мг необходимое количество порошкообразного контрольного образца микробного коагулянта, общая молокосвертывающая активность которого составляет 2500 IMCU. Затем отвешенное взвешенное количество порошкообразного контрольного образца микробного коагулянта помещают в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 см^3 (4.3). Добавляют от 15 до 20 см^3 буферного раствора (3.1) и перемешивают с образованием завихрения, избегая образования пены. Доводят объем до метки буферным раствором (3.1) и снова хорошо перемешивают.

Примечание — В настоящем стандарте и [6] используют порошкообразный контрольный образец (3.5) с активностью примерно 1000 IMCU/г и устанавливают массу порошка 2,500 г, общая молокосвертывающая активность которой составляет примерно 2500 IMCU. При поставке второй партии невозможно достичь оговоренного значения активности 1000 IMCU/г. Поэтому было решено сохранять значение 2500 IMCU и регулировать взвешиваемую массу в зависимости от общей молокосвертывающей активности порошкообразного контрольного образца. Например, если контрольный образец имеет общую активность 2200 IMCU/г, то взвешивают 1,136 г (2500/2200) порошка.

7.2.2 Рабочий раствор контрольного образца микробного коагулянта

Для получения надлежащей продолжительности свертывания отбирают пипеткой 3 см^3 раствора контрольного образца микробного коагулянта (7.2.1) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 см^3. Доводят объем до метки буферным раствором (3.1) и хорошо перемешивают.

Примечание — Ожидаемая продолжительность свертывания рабочего раствора контрольного образца микробного коагулянта составляет от 350 до 550 с.

Хранят рабочий раствор контрольного образца микробного коагулянта при температуре от 0 °С до 5 °С (на льду) и используют в день приготовления.

7.3 Приготовление испытуемого раствора микробного коагулянта

От приготовленной анализируемой пробы (6.1 или 6.2) отбирают соответствующую пробу для анализа — для порошка от 3 до 5 г. Разбавляют пробу для анализа буферным раствором (3.1) до получения

испытуемого раствора микробного коагулянта, продолжительность свертывания которого аналогична продолжительности свертывания рабочего раствора контрольного образца микробного коагулянта (7.2.2) с допуском ±40 с. Записывают окончательный коэффициент разбавления испытуемого раствора, используемый при расчете (8.1).

7.4 Свертывание

7.4.1 В сухую колбу или пробирку (4.8) пипеткой (4.2) вносят (25,0 ± 0,1) см^3 субстрата (7.1). Подогревают субстрат, вращая колбу или пробирку в водяной бане (4.9), от 12 до 20 мин. Затем к субстрату с помощью микропипетки (4.1) быстро добавляют 0,5 см^3 рабочего раствора контрольного образца микробного коагулянта (7.2.2). Одновременно включают секундомер (4.7). Перемешивают с образованием завихрения, избегая образования пены, и немедленно присоединяют колбу или пробирку к вращающемуся валу электродвигателя.

Записывают по секундомеру продолжительность свертывания, когда впервые наблюдается появление хлопьев в пленке субстрата на стенке колбы или пробирки.

Для получения идентичных условий пробы для анализа всегда размещают в водяной бане как можно ближе к пробам контрольного образца. Для данного метода, представляющего собой сравнительный анализ, первостепенное значение имеет поддержание одной и той же температуры свертывания для проб для анализа и для проб контрольного образца. Для выполнения данного требования проверяют температуру водяной бани путем измерения температуры проб молока в различных местах бани. Если невозможно достигнуть максимально допустимого отклонения ±0,2 °С (см. 4.9), то используют водяную баню иной конструкции или иной системы циркуляции воды.

7.4.2 Как можно быстрее проводят испытания по 7.4.1, замещая рабочий раствор контрольного образца микробного коагулянта (7.2.2) испытуемым раствором микробного коагулянта (7.3).

7.4.3 Проводят два параллельных определения. Рассчитывают среднее значение продолжительности свертывания для рабочего раствора контрольного образца микробного коагулянта и испытуемого раствора микробного коагулянта соответственно.

Примечание — Вместо 25 см^3 субстрата и 0,5 см^3 рабочего раствора контрольного образца микробного коагулянта в 7.4.1 допускается использовать 10 см^3 субстрата и 0,2 см^3 рабочего раствора или 50 см^3 субстрата и 1,0 см^3 рабочего раствора. В любом случае отношение субстрата к рабочему раствору должно составлять 50:1.

8 Расчет и выражение результатов

8.1 Расчет

Общую молокосвертывающую активность пробы для испытания по сравнению с порошкообразным контрольным образцом микробного коагулянта a_t, выраженную в международных единицах молокосвертывающей активности (IMCU) на 1 г или на 1 см^3, рассчитывают по формуле

$$a_t = \frac{t_r m_r V_1 d a_r}{t_t V_2 V_3}, \quad (1)$$

где t_r — численное значение средней продолжительности свертывания, полученное для рабочего раствора контрольного образца микробного коагулянта (7.4.1 и 7.4.3), с;

m_r — масса контрольного образца микробного коагулянта, взвешенного в 7.2, г;

V_1 — объем раствора контрольного образца микробного коагулянта, отобранный в 7.2 (V_1 = 3 см^3), см^3;

d — коэффициент разбавления испытуемого раствора (7.3);

a_r — численное значение молокосвертывающей активности порошкообразного исходного контрольного образца микробного коагулянта (3.5), в IMCU на 1 г, указываемое на стеклянной ампуле контрольного порошка;

t_t — численное значение средней продолжительности свертывания, полученное для испытуемого раствора микробного коагулянта (7.4.2 и 7.4.3), с;

V_2 — окончательный объем раствора контрольного образца микробного коагулянта в 7.2.1 (V_2 = 50 см^3), см^3;

V_3 — окончательный объем рабочего раствора контрольного образца микробного коагулянта в 7.2.2 (V_3 = 50 см^3), см^3.

Формулу (1) можно упростить до формулы (2) введением следующих значений: V_1 = 3 см^3; V_2 = 50 см^3; V_3 = 50 см^3.

$$a_t = \frac{t_r m_r \cdot 0{,}0012 \cdot d a_r}{t_t}. \quad (2)$$

8.2 Выражение результатов

Результаты выражают в международных единицах молокосвертывающей активности (IMCU) на 1 г или на 1 см^3 с точностью до ближайшего целого числа.

9 Прецизионность

9.1 Межлабораторное испытание

Значения, полученные в данном межлабораторном испытании, могут быть не применимы к диапазонам концентраций и матрицам, отличным от приведенных в настоящем стандарте.

Значения повторяемости и воспроизводимости получены из среднеквадратических отклонений s_d, по которым оценивают истинное среднеквадратическое отклонение метода. Если в результате длительного периода значительно менее 95 % случаев находятся в пределах значений, указанных в 9.2 и 9.3, рекомендуется усовершенствовать технику выполнения анализа.

При анализе порошкообразных коагулянтов значение в процентах для упомянутых ниже параметров прецизионности, повторяемости и воспроизводимости может быть немного выше из-за различий в растворимости и некоторой степени неоднородности порошков.

Межлабораторное испытание по определению прецизионности метода было выполнено с использованием специфических исходных контрольных образцов микробного коагулянта для каждого типа микробного коагулянта (*R. miehei, R. pusillus* и *Cryphonectria parasitica* соответственно).

По практическим соображениям позже было решено, что для достижения цели этого метода будет достаточно одного контрольного образца микробного коагулянта, но межлабораторные испытания с использованием только одного контрольного образца микробного коагулянта не были проведены. Однако предполагают, что прецизионность метода будет не хуже прецизионности, представленной в этом методе.

9.2 Повторяемость

Коэффициент вариации повторяемости $C_{V,r}$, в процентах, который выражает изменчивость независимых аналитических результатов, полученных одним оператором при использовании одной и той же аппаратуры в одинаковых условиях на одной и той же пробе для испытания в пределах короткого промежутка времени, должен не более чем в 5 % случаев превышать 2,0 % среднеарифметического результатов испытания.

Если два определения проведены в этих условиях, то абсолютное значение разности $r_{(rel)}$, в процентах, между двумя результатами не должно превышать 5,5 % среднеарифметического результатов испытания.

9.3 Воспроизводимость

Коэффициент вариации воспроизводимости $C_{V,R}$, в процентах, который выражает изменчивость независимых аналитических результатов, полученных операторами в разных лабораториях при использовании различной аппаратуры в разных условиях проведения анализа на одной и той же пробе для испытания, должен не более чем в 5 % случаев превышать 5,6 % среднеарифметического результатов испытания.

Если два определения проведены в этих условиях, то абсолютное значение разности $R_{(rel)}$, в процентах, между двумя результатами не должно превышать 15,7 % среднеарифметического результатов испытания.

Примечание — Значения параметров прецизионности действительны, принимая во внимание широкий диапазон лабораторий. Опыт показал, что хорошо обученный персонал лабораторий способен выполнять анализ с воспроизводимостью между лабораториями 2 %.

10 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен включать, по меньшей мере, следующую информацию:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

b) используемый метод отбора проб, если известен;

c) используемый метод испытания со ссылкой на настоящий стандарт;

d) все подробности, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как необязательные, вместе с подробностями всех побочных обстоятельств, которые могут повлиять на результат(ы) испытания;

e) полученный(е) результат(ы) испытания;

f) в случае проверки повторяемости, окончательный полученный зарегистрированный результат.

Приложение А
(справочное)

Межлабораторное испытание

А.1 Общие положения

Межлабораторные совместные испытания с участием 15 лабораторий из девяти стран были проведены с использованием микробных коагулянтов. Испытания были организованы A. Andrén, Швеция. Результаты испытания были подвергнуты статистическому анализу[1)] профессором Seppo Niemelä, Финляндия, повторно проанализированы и скорректированы в 2010 г. в соответствии с требованиями [4] и [5].

А.2 Пробы и результаты

Межлабораторные испытания были выполнены на трех различных жидких препаратах коагулянта *R. miehei* (Rm, термолабильный), *R. pusillus* (Rp) или *C. parasitica* (Cp) соответственно. Каждый препарат был разделен на две части, и одна из них была разбавлена до 85 % (Rm), 75 % (Rp) или 65 % (Cp) первоначальной концентрации. Полученные таким образом шесть проб были разделены пополам, образуя в результате 12 необозначенных параллельных проб.

Примечания

1 Препарат *R. miehei* был назван во время межлабораторного испытания *Mucor miehei* и обозначен Mm.

2 Препарат *C. parasitica* был назван во время межлабораторного испытания *Endothia parasitica* и обозначен Ep.

Межлабораторные испытания были выполнены с использованием контрольного образца для каждого из трех типов микробного коагулянта, тогда как в настоящем стандарте используется только один контрольный образец. Это дает лишь незначительное расхождение в результатах и, что наиболее весомо, все лаборатории использовали один и тот же метод и контрольный образец.

Результаты, приведенные в таблице А.1, получены в результате проведения межлабораторных испытаний в 1993 г.[2)] Результаты, приведенные в таблице А.1, исключают результаты лаборатории № 10 для проб 7/11 (критерий Кохрена) и 9/12 (критерий Кохрена) и лаборатории № 14 для проб 1/5 (критерии Кохрена и Граббса) и 3/6 (критерий Граббса).

Таблица А.1 — Результаты межлабораторных испытаний

Проба №	Коагулянт	Среднее IMCU/см^3	$C_{V,r}$, %	r	$r_{(rel)}$, %	$C_{V,R}$, %	R	$R_{(rel)}$, %	Выбросы
8/10	Rm 100 %	208,6	3,1	17,9	8,6	3,6	20,9	10,0	—
1/5	Rm 85 %	178,7	1,4	7,2	4,0	4,0	20,1	11,3	1 (Кохрен и Граббс)
2/4	Rp 100 %	422,3	1,9	21,9	5,2	8,2	97,3	23,0	—
9/12	Rp 75 %	312,8	2,3	20,0	6,4	9,2	80,8	25,8	1 Кохрен
7/11	Cp 100 %	232,1	1,5	9,8	4,2	5,3	34,6	14,9	1 Кохрен
3/6	Cp 65 %	154,9	1,7	7,4	4,8	3,2	13,9	9,0	1 Граббс
Среднее значение	—	—	2,0	—	5,5	5,6	—	15,7	—

[1)] Результаты были первоначально получены в соответствии с ISO 5725:1986 (заменен).

[2)] Результаты были получены в результате межлабораторного испытания в соответствии с ISO 5725:1986 (заменен), но статистический анализ был проведен в соответствии с [4] и [5].

Библиография

[1] ISO 648 Laboratory glassware — Single-volume pipettes

[2] ISO 707|IDF 50:2008 Milk and milk products — Guidance on sampling

[3] ISO 1042 Laboratory glassware — One-mark volumetric flasks

[4] ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions

[5] ISO 5725-2:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method

[6] ISO 11815|IDF 157 Milk — Determination of total milk-clotting activity of bovine rennets

[7] ISO 15163|IDF 110 Milk and milk products — Calf rennet and adult bovine rennet — Determination by chromatography of chymosin and bovine pepsin contents

[8] International Collaborative Study on Microbial Coagulants — Determination of total milk-clotting activity. Bull. IDF

УДК 637.1:006.354 МКС 07.100.30
67.100.10 IDT

Ключевые слова: молоко и молочные продукты, микробные коагулянты, контрольный образец микробного коагулянта, определение общей молокосвертывающей активности, субстрат, свертывание, жидкий микробный коагулянт, порошкообразный микробный коагулянт

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Ю.М. Прокофьева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 11.03.2015. Подписано в печать 17.03.2015. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,30. Тираж 48 экз. Зак. 1310.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru