ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 52996— 2008 (ИСО 11816-1:2006)

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение активности щелочной фосфатазы

Часть 1

Флуориметрический метод для молока и молочных продуктов

ISO 11816-1:2006
Milk and milk products — Determination of alkaline phosphatase activity — Part 1: Fluorimetric method for milk and milk-based drinks
(MOD)

Издание официальное

БЗ 8—2008/216

Москва
Стандартинформ
2009

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН ОАО «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» (ОАО «ВНИИС») на основе аутентичного перевода международного стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 6 ноября 2008 г. № 289-ст

4 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту 11816-1:2006 «Молоко и молочные продукты. Определение активности щелочной фосфатазы. Часть 1. Флуориметрический метод для молока и молочных продуктов» (ISO 11816-1:2006 «Milk and milk products — Determination of alkaline phosphatase activity — Part 1: Fluorimetric method for milk and milk-based drinks»).

При этом дополнительные слова, фразы, абзацы, включенные в текст стандарта для учета потребностей национальной экономики Российской Федерации и особенностей российской национальной стандартизации, выделены курсивом

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 2009

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 1
4 *Сущность метода* 2
5 Реактивы 2
6 Аппаратура 2
7 Отбор проб 3
8 *Подготовка к испытанию* 3
9 *Проведение испытаний* 3
10 Вычисление и выражение результатов 5
11 Прецизионность 6
12 Протокол испытания 7
Приложение А (справочное) Межлабораторное испытание 7
Библиография 8

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение активности щелочной фосфатазы

Часть 1

Флуориметрический метод для молока и молочных продуктов

Milk and milk products. Determination of alkaline phosphatase activity.
Part 1. Fluorimetric method for milk and milk products

Дата введения — 2010—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает флуориметрический метод для определения активности щелочной фосфатазы (ALP) в пастеризованном цельном, полужирном и обезжиренном молоке. Метод применим для молока коров, овец, коз и для молочных напитков.

Метод также *пригоден* для определения высокой активности щелочной фосфатазы в сыром и термообработанном молоке с активностью более 2000 мЕ/л после заданного разбавления образца.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. 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 **активность щелочной фосфатазы (ALP активность):** Активность щелочной фосфатазы, присутствующей в продукте, определенная методом, установленным *настоящим стандартом*.

Примечание — Активность щелочной фосфатазы выражена в миллиединицах активности фермента на литр, мЕ/л.

3.2 **единица активности щелочной фосфатазы:** Объем фермента щелочной фосфатазы, который катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в минуту.

Издание официальное

4 Сущность метода

Активность щелочной фосфатазы для образца измеряется путем непрерывного флуориметрического прямого кинетического анализа. В субстрате нефлуоресцентного ароматического монофосфорного эфира, 2′-[2-бензотиазолил]-6′-гидроксибензотиазол фосфат, в присутствии любой щелочной фосфатазы, образованной из этого образца, происходит гидролиз его фосфатного радикала, производя продукт с интенсивной флуоресценцией. Флуориметрическое измерение активности щелочной фосфатазы проводят при температуре 38 °С в течение трех минут, используя субстрат. Сюда включена преинкубация субстрата и образца с последующим многократным кинетическим считыванием скорости реакции.

Примечание — Хотя испытание длится 3 мин, первая минута является равновесным периодом для обеспечения температуры образца 38 °С. Измерения активности фактически начинаются со второй минуты и продолжаются до конца третьей минуты (т. е. 2 мин).

5 Реактивы

Используются только *реактивы* признанной аналитической чистоты, если нет других указаний, и дистиллированная или деминерализованная вода или вода аналогичной чистоты.

5.1 Субстрат Флуорофоса® в пробирках, каждая из которых содержит 144 мг порошка Флуорофоса®.

Этот субстрат нефлуоресцентного ароматического монофосфорного эфира, 2′-[2-бензотиазолил]-6′-гидроксибензотиазол фосфат (Флуорофос®). Субстрат Флуорофоса® остается стабильным в течение двух лет, если его хранить в закрытых пробирках при температуре от 2 °С до 8 °С.

5.2 Буферный раствор субстрата, буферный раствор диэтаноламина (DEA), c (DEA) = 2,4 моль/$дм^3$, с pH 10,0 в пробирках вместимостью 240 $см^3$ каждая.

Буферный раствор субстрата остается стабильным в течение двух лет, если его хранить в закрытых пробирках при температуре от 2 °С до 8 °С.

5.3 Рабочий субстрат

Оставляют субстрат Флуорофоса® и буферный раствор субстрата до достижения комнатной температуры. Добавляют содержимое одной пробирки с буферным раствором субстрата (240 $см^3$) к содержимому одной пробирки Флуорофоса® (144 мг) (*см.* 5.1) и хорошо перемешивают, переворачивая, в течение 3 мин. Используют желтое стекло для защиты против света.

Перед использованием полученный раствор выдерживают при комнатной температуре как минимум 30 мин.

Используют аналого-цифровой тест, описанный в 9.4.1.1, для проверки устойчивости готового к использованию субстрата.

Рабочий субстрат остается стабильным в течение 60 дней, если он защищен от света и хранится при температуре от 2 °С до 8 °С, или в течение 8 ч, если хранится при 38 °С. Не следует использовать рабочий субстрат, если получено показание выше 1200.

Примечание — Полученный объем рабочего субстрата (240 мл) является достаточным приблизительно для 115 тестов.

5.4 Рабочие калибровочные растворы, Флуорожелтый® (FY), 2′-[2-бензотиазолил]-6′-гидроксибензотиазол в буферном растворе DEA.

Рабочие калибровочные растворы остаются стабильными в течение 18 мес, когда их хранят при температуре от 2 °С до 8 °С.

5.4.1 Калибровочный раствор А, содержащий 0 мкмоль/$дм^3$ Флуорожелтого®.

5.4.2 Калибровочный раствор В, содержащий $17{,}24 \cdot 10^{-3}$ мкмоль/$дм^3$ Флуорожелтого®.

5.4.3 Калибровочный раствор С, содержащий $34{,}48 \cdot 10^{-3}$ мкмоль/$дм^3$ Флуорожелтого®.

5.5 Раствор для ежедневного контроля прибора, содержащий $34{,}48 \cdot 10^{-3}$ мкмоль/$дм^3$ Флуорожелтого®.

6 Аппаратура

6.1 Фильтрованный флуориметр с термостатически регулируемым держателем кюветы при поддержании температуры (38 ± 1) °С и правоугольной оптической системой, допускающей возбуждение при длине волны 440 нм и испускание при 520—560 нм (например, прибор Флуорофос®).

Измерения должны быть оптимизированы согласно инструкциям изготовителей.

6.2 Кюветы сменные, из нефлуоресцентного стекла, диаметром 12 мм и длиной 75 мм.

6.3 Пипетки.

6.3.1 Дозатор фиксированного объема, дозирующий по 2,0 $см^3$.

6.3.2 Пипетка вытеснительного типа или нагнетательная вместимостью 0,075 $см^3$.

6.3.3 Пипетка вместимостью 2 $см^3$.

6.4 Инкубаторный блок, поддерживающий температуру (38 ± 1) °С, подходящий для помещения в них кювет.

6.5 Парафильм[1)] или другая подходящая пленка лабораторного класса.

6.6 Вихревая мешалка.

6.7 Водяная баня, поддерживающая температуру (63 ± 1) °С и (95 ± 1) °С.

6.8 Мерные колбы с одной меткой вместимостью 100 $см^3$.

7 Отбор проб

В лабораторию должна быть отправлена представительная проба. Ее следует оберегать от повреждений во время транспортирования или хранения.

рекомендуется Отбор проб проводить по ГОСТ Р 26809 и [1].

8 Подготовка к испытанию

8.1 Молоко, не содержащее щелочной фосфатазы

Приготовляют молоко без фосфатазы *для испытания,* тщательно дозируя требуемую порцию молока в пробирку или подходящий контейнер, следя, чтобы оно не касалось краев или стенок контейнера.

Помещают пробирку или контейнер с образцом молока в водяную баню, установленную на 95 °С, нагревают до 95 °С и продолжают его подогрев в течение 5 мин при этой температуре. Температуру контролируют термометром или термисторным зондом, помещенным в центр пробирки или контейнера. *Затем образец быстро охлаждают.*

Таким образом обработанный образец молока тестируют, чтобы удостовериться, что активность щелочной фосфатазы меньше 10 мЕ/л.

8.2 Приготовление образца для испытаний

8.2.1 Общие вопросы

Перед использованием все испытуемые образцы тщательно перемешивают, *не нагревая.*

8.2.2 Пастеризованные испытуемые образцы

Пастеризованные испытуемые образцы используют в состоянии после поставки в требуемых количествах.

8.2.3 Разбавление испытуемых образцов с высокими значениями ALP

Приготовляют разбавленные образцы молока, используя молоко без фосфатазы, для того чтобы их уровни активности щелочной фосфатазы ALP соответствовали аналитическому диапазону испытания (< 2000 мЕ/л). Разбавленные растворы хорошо перемешивают.

9 Проведение испытаний

9.1 *Проверка* рабочих характеристик прибора

Важно, чтобы до проведения испытания образцов была проведена проверка рабочих характеристик прибора на отклонение, рассеянное световое излучение и стабильность. *Все параметры фильтрованного флуориметра должны соответствовать требованиям 6.1.*

Контрольные тесты качества включают:

- ежедневный тест A/D (аналого-цифровое преобразование), выполняемый для проверки правильности функционирования оборудования путем измерения точности канала A/D преобразования и мониторинга A/D канала на отклонение по времени или температуре;
- ежедневный контрольный тест прибора с использованием ежедневного контрольного раствора в приборе для мониторинга любого электронного или оптического отклонения флуориметра.

Использование контрольных проверок системы и реактивов, описанных в 9.4, настоятельно рекомендуется для ежедневного мониторинга параметров точности прибора.

[1)] Парафильм является примером подходящего продукта, выпускаемого в промышленности.

9.2 Калибровка *прибора*

Калибровочные кривые обычно стабильны. Прибор следует калибровать каждые три месяца. Однако *в случае*, когда флуориметр устанавливают впервые или если процедуры обслуживания влияют на сохраненную калибровку, или если проверенные контрольные значения показывают неприемлемые результаты, то его калибруют повторно.

Если *обнаружены* изменения в калибровочной кривой, прибор также калибруют повторно, используя новый набор калибровочных растворов А, В и С (*см.* 5.4). Калибровочную кривую устанавливают для каждого типа *испытуемого* продукта.

Перед использованием калибровочные растворы А, В и С смешивают, плавно переворачивая. С помощью пипетки переносят по 2,0 *см*^{3} калибровочных растворов А, В и С соответственно, каждого в двух экземплярах, в шесть предварительно маркированных кювет. Помещают кюветы в инкубаторный блок, установленный на 38 °С, и предварительно нагревают в течение 10 мин.

С помощью нагнетательной или вытеснительной пипетки добавляют 0,075 *см*^{3} молока, не содержащего щелочной фосфатазы, в шесть кювет. Закрывают кюветы парафильмом (*см.* 6.5). Перемешивают их содержимое с помощью вихревой мешалки в течение 5 с или путем мягкого переворачивания кювет. Возвращают кюветы в инкубационный блок. Выполняют калибровку в течение 10 мин после добавления испытуемого образца в калибровочный раствор.

Начиная с калибровочного раствора А, выполняют следующие установившиеся процедуры калибровки. Перед помещением кювет в фильтровальный Флуорофос® нажимают «CALIB» и выбирают меню «ALP Diary» (щелочная фосфатаза в молочных продуктах). Прокручивают меню и, когда отображается продукт, который должен калиброваться, нажимают «ENTER». Начиная с калибровочного раствора А помещают этот раствор во флуориметр и нажимают «START». Когда измерение закончено, измеряют второй калибровочный раствор А.

Такую же процедуру выполняют для калибровочных растворов В и С, пока все процедуры не будут закончены. Прибор Флуорофос® автоматически вычисляет значение флуоресценции, полученное с калибровочными растворами В и С в сравнении с калибровочным раствором А, чтобы установить калибровочный коэффициент прибора.

Когда калибровка выполнена, приступают к анализу испытуемых образцов.

9.3 Определение

С помощью дозатора фиксированного объема переносят 2,0 *см*^{3} субстрата в маркированную кювету. Помещают кювету в инкубаторный блок, установленный на 38 °С, и нагревают в течение 15 мин.

С помощью пипетки добавляют 0,075 *см*^{3} хорошо перемешанного испытуемого образца (*см.* 8.2.2 или 8.2.3) к субстрату. Накрывают кювету парафильмом (*см.* 6.5). Сразу же перемешивают ее содержимое, используя вихревую мешалку (*см.* 6.6) в течение 5 с или плавно переворачивая кювету. Вытирают кювету снаружи мягкой тканью и помещают ее в фильтровальный флуориметр.

Нажимают клавишу «TEST», появляется надпись «ALP Diary», затем нажимают «ENTER». Прокручивают меню и нажимают «ENTER», когда отображается продукт, который должен анализироваться. Затем нажимают клавишу «START», чтобы начать испытание. На дисплее будет идти обратный отсчет 60 с, пока субстрат и образец нагреется до 38 °С. Через 60 с флуориметр начинает измерение, показывая флуоресценцию образца в единицах флуоресценции (FLU). Отображение начинается с 200 FLU и медленно возрастает в течение следующих двух минут. В конце третьей минуты периода прибор Флуорофос автоматически выполняет необходимые вычисления и отображает идентификационный номер образца, активность ALP в миллиединицах на литр и среднее увеличение флуоресценции, если это было предварительно задано. Затем эта информация будет напечатана.

Делят разность между двумя показаниями флуоресценции на время интервала (записанное в минутах), чтобы получить среднее увеличение флуоресценции в минуту (*F*/мин). Используют значение *F*/мин, чтобы вычислить активность ALP для испытуемого образца.

Прибор может отобразить на дисплее и распечатать сообщение «Error: Unstable Reading, Repeat Test» (Ошибка. Нестабильное показание. Повторить испытание). В случае очень высоких результатов нужно разбавить испытуемый образец термообработанном молоком, не содержащим фосфатазы, и провести другое испытание.

Для очень низких результатов (обычно 6 FLU/мин), когда нестабильные показания получаются чаще, оставляют кювету с образцом в камере Флуорофос® и проводят другое определение. Тогда обычно получается действительный результат. Однако, если снова возникает ошибка из-за нестабильных показаний, повторяют все определение с новым испытуемым образцом.

9.4 Контрольные тесты

9.4.1 Контрольные проверки системы и реагентов

9.4.1.1 Тест A/D

При использовании прибора Флуорофос тест A/D проводят ежедневно перед испытанием.

Отмеряют 2,0 *см*^{3} ежедневного контрольного раствора для прибора в маркированную кювету. Помещают кювету в инкубаторный блок, установленный на 38 °С, на 10 мин.

Получают доступ к тесту A/D через меню «SETUP». Нажимают клавишу «SETUP», затем выбирают пункт меню «A/D Test», нажимая <or>. При пустом держателе кюветы нажимают «START». Ждут, когда цифры, появляющиеся на экране дисплея, стабилизируются.

Показание дисплея должно быть 302 ± 4. Если показание вне этого диапазона, очищают фильтры возбуждения и испускания и повторяют тест A/D.

Вставляют предварительно нагретую кювету в держатель кюветы. Закрывают крышкой. Когда показание дисплея стабильно, записывают отображаемое значение, которое должно быть 602 ± 12. Если значение вне этого диапазона, используют маленькую отвертку из поставки и медленно поворачивают винт потенциометра с левой стороны прибора по часовой стрелке или против, как необходимо, пока показание дисплея не будет 602.

Тест A/D можно также использовать для проверки пригодности готового к использованию рабочего субстрата. Только что приготовленный субстрат в режиме A/D обычно дает показание около 650 FLU , которое увеличивается со временем.

Не следует использовать рабочий субстрат, когда на дисплее получено показание выше 1200 FLU.

9.4.1.2 Позитивный, негативный и PhosphaCheck-N™ (контроль фосфатазы) механизмы контроля

После калибровки канала, используемого для коровьего молока, анализируют три контрольных раствора (т. е. позитивный, негативный и PhosphaCheck-N™) путем добавления 75 *мм*^{3} каждого контрольного раствора к 2 *см*^{3} предварительно нагретого субстрата. Выполняют тест ALP.

Показание для негативного контроля должно быть < 10, а для PhosphaCheck-N™ < 40.

9.4.2 Испытуемый образец и механизмы контроля, связанные с прибором

9.4.2.1 Тест негативного контроля

Включают тест негативного контроля с каждой партией испытуемых образцов. Нагревают испытуемый образец, как описано в 8.1. Показание прибора должно быть меньше 10 мЕ/л, то есть флуоресцентная активность не детектируется. Если значение превышает 10 мЕ/л, повторяют действие 9.4.1.2.

9.4.2.2 Тест позитивного контроля

Включают один или больше механизмов позитивного контроля с каждой партией испытуемых образцов. Приготовляют образцы аналогичного или почти аналогичного состава, используя образцы сырого молока, разбавленные молоком без фосфатазы.

9.4.3 Тест на интерферирующие вещества

Если значения ALP получены выше ожидаемых, добавляют в кювету с помощью пипетки 0,075 *см*^{3} испытуемого образца и 2,0 *см*^{3} калибровочного раствора А, который предварительно нагревали в инкубаторном блоке, установленном на 39 °С, в течение 10 мин, и перемешивают.

Помещают кювету с этой смесью в прибор Флуорофос® и испытывают, как в 9.2. Если полученное значение превышает 20 мЕ/л, значит, присутствует интерферирующее вещество. В этом случае повторяют испытание со свежим образцом.

9.4.4 Контрольный тест на теплостойкую щелочную фосфатазу

Добавляют другой испытуемый образец в пробирку. Вставляют термометр или термисторный зонд в пробирку и все помещают в водяную баню, установленную на 63 °С. Когда испытуемый образец нагревают до 63 °С, его выдерживают при этой температуре 30 мин, затем быстро охлаждают. Определяют остаточную активность фосфатазы согласно 9.3. Любая остаточная активность обусловлена присутствием теплостойкой микробной щелочной фосфатазы.

10 Вычисление и выражение результатов

10.1 Калибровочный коэффициент

Результаты вычисляют автоматически прибором Флуорофос® посредством алгоритма, встроенного в фильтровальный флуориметр. Если результаты будут вычисляться вручную, действуют следующим образом.

Записывают значения флуоресценции калибровочных растворов В и калибровочного раствора С (*см.* 5.4.3), сравнивают с калибровочным раствором А (*см.* 5.4.1), установленным на нулевую флуоресценцию на фильтровальном флуориметре.

Калибровочный коэффициент *К* вычисляют *по формуле*

$$K = \frac{F_C - 2F_B}{4}, \quad (1)$$

где F_C — значение флуоресценции, полученное путем измерения калибровочного раствора С в сравнении с калибровочным раствором А, установленным на нулевую флуоресценцию (см. 9.2);

F_B — числовое значение флуоресценции, полученное путем измерения калибровочного раствора В в сравнении с калибровочным раствором А, установленным на нулевую флуоресценцию (см. 9.2).

10.2 Вычисление *ALP*

Активность щелочной фосфатазы A_p, *мЕ/л*, вычисляют *по формуле*

$$A_p = \frac{F_{av} c_B}{KV} f, \qquad (2)$$

где F_{av} — среднее значение флуоресценции, производимой в минуту (см. 9.3), измеренное в сравнении с калибровочным раствором А (см. 9.2) от начала второй минуты до конца третьей;

c_B — концентрация Флуорожелтого® в калибровочном растворе В, в микромолях на 2 *см*^{3} калибровочного раствора;

K — *калибровочный коэффициент по (1), см*^{3};

V — объем испытуемого образца;

f — коэффициент разбавления ($1 \cdot 10^6$) для пастеризованных образцов; для испытуемых образцов сырого молока f равно $1 \cdot 10^8$; для испытуемых образцов термообработанного молока умножают $f = 1 \cdot 10^6$ на коэффициент разбавления f_t испытуемого образца ($f = f_t \cdot 10^6$).

10.3 Выражение результатов испытания

Результаты испытания выражают с точностью до ближайшего целого знака миллиединицы.

11 Прецизионность

Прецизионность метода и результатов измерений рассчитывают по ГОСТ Р ИСО 5725-1 и ГОСТ Р ИСО 5725-2.

11.1 Межлабораторное испытание

Детали межлабораторного испытания приведены в приложении А. Значения, полученные из этого испытания, можно применять для других диапазонов и матриц.

11.2 Повторяемость

Абсолютная разность между двумя независимыми результатами единичных испытаний, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором, использующим одно и то же оборудование, в течение короткого интервала времени, должна не более чем в 5 % случаев превышать значения для r, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 — Значения предела повторяемости r

Продукт	Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
	20	40	100	350	500
Коровье молоко	—	21,50	22,10	89,60	93,30
Овечье молоко	10, 43	16,26	33,67	96,82	99,76
Козье молоко	8,63	7,98	26,20	42,83	28,56

11.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя результатами единичных испытаний, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в разных лабораториях разными операторами, использующими разное оборудование, должна не более чем в 5 % случаев превышать значения для K, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 — Значения предела воспроизводимости R

Продукт	Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
	20	40	100	350	500
Коровье молоко	—	31,80	51,00	136,40	211,10
Овечье молоко	16,63	20,34	46,63	170,24	233,10
Козье молоко	10,69	20,55	28,71	127,89	87,51

12 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать в себя:
- всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;
- метод отбора проб и приготовления образцов, если известно;
- используемый метод испытания;
- все рабочие детали или рассматриваемые как факультативные, а также детали всех инфидентов, которые могли повлиять на результат(ы) испытания;
- полученный(е) результат(ы) или, если проверялась повторяемость, окончательно указанный полученный результат.

Приложение А
(справочное)

Межлабораторное испытание

Межлабораторное испытание, включающее 13 лабораторий из семи стран (США, Великобритания, Франция, Норвегия, Италия, Нидерланды и Швейцария), проводилось согласно [2] и [3] на четырех типах коровьего молока и на овечьем и козьем молоке. Испытание было закончено в марте 2004 г.

Полученные результаты были подвергнуты статистическому анализу согласно [2] и [3], из которого получены данные прецизионности, приведенные в таблицах А.1 и А.2. Данные выражены как значения относительного стационарного отклонения в процентах и представляют сводные статистические результаты межлабораторного исследования. Общий отчет об исследовании опубликован в [4].

Таблица А.1 — Относительное стандартное отклонение повторяемости

В процентах

Продукт		Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
		20	40	100	350	500
Коровье молоко	Цельное	16,20	22,51	6,79	4,60	8,37
	Полужирное	13,15	13,19	7,53	12,72	2,97
	Обезжиренное	—	13,09	7,94	5,32	5,84
	Ароматизированное[1)]	—	12,85	6,12	4,68	3,33
	Коровье молоко (все)	—	18,66	7,69	8,89	6,48
Овечье молоко		11,68	12,04	10,68	7,86	5,69
Козье молоко		13,81	5,94	7,29	3,65	1,74
[1)] Для испытания ароматизированного молока использовали молоко с добавлением вкуса клубники.						

Таблица А.2 — Относительное стандартное отклонение воспроизводимости

В процентах

Продукт		Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
		20	40	100	350	500
Коровье молоко	Цельное	16,20	25,44	15,96	6,60	17,29
	Полужирное	24,30	17,19	16,45	16,86	9,79
	Обезжиренное	—	27,21	19,01	9,81	12,37
	Ароматизированное[1)]	—	22,13	11,26	10,47	9,50
	Коровье молоко (все)	—	27,60	17,69	13,53	14,66
Овечье молоко		18,62	15,07	14,79	13,82	13,30
Козье молоко		17,11	15,31	7,98	10,91	5,33
[1)] Для испытания ароматизированного молока использовали молоко с добавлением вкуса клубники.						

Примечание — В некоторых случаях было недостаточно данных для коровьего молока, чтобы вычислить значения *r* и *R* при уровне активности 20 мЕ/л. Причина в том, что прибор Флуорофос® записывает значение < 10 мЕ/л для очень низких значений ALP и нет принятого статистического механизма для обработки такого результата. Это означает, что все результаты, правильно записанные как < 10 мЕ/л, пришлось исключить из статистических вычислений.

Библиография

[1] ИСО 707:1997	Молоко и молочные продукты. Руководящие указания по подбору проб
[2] ИСО 5725-1:1994	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения
[3] ИСО 5725-2:1994	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод для определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения
[4] HARDING, F and GARRY, E	Collaborative evaluation of a fluometric method for measuring alkaline phosphatase activity in cow's, sheep's and goat's milk. *J. Food Prot.*, 68(5), 2005, pp. 1047—1053

УДК 637.544:006.354 ОКС 67.100 Н09

Ключевые слова: молоко, молочные продукты, молочные напитки, флуометрический метод, активность щелочной фосфатазы

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.Е. Нестерова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 09.12.2008. Подписано в печать 27.01.2009. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,10. Тираж 393 экз. Зак. 29.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4
www.gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru