СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора по науке БелГИМ

_____ Солодинец

«____» _____ 2015

УТВЕРЖДАЮ

Управляющий ОДО «КомПродСервис»

_____ Д.Ч. Кучинский

«____» _____ 2015

Извещение №1 об изменении
МВИ.МН 2642-2015

Методика выполнения измерений содержания стрептомицина в продукции животного происхождения с использованием тест-систем Ridascreen®Streptomycin производства R-BiopharmAG, Германия

СОГЛАСОВАНО

Директор Института биоорганической химии НАН Беларуси

_____ А. Усанов

«_____» _____ 2015

Республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт метрологии» (БелГИМ)
Свидетельство № 918 / 2015
об аттестации МВИ от 30 12 2015 г.

МИНСК 2015

КОПИЯ ВЕРНА

gost.e-ecolog.ru

	ИЛ	ИЗВЕЩЕНИЕ № 1		ОБОЗНАЧЕНИЕ ДОКУМЕНТА МВИ.МН 2642-2015	
Дата выпуска		Срок изменения		Лист 2	Листов 2
ПРИЧИНА		Изменение области применения		Код -	
УКАЗАНИЕ О ЗАДЕЛЕ					
УКАЗАНИЕ О ВНЕДРЕНИИ					
ПРИМЕНЯЕМОСТЬ					
РАЗОСЛАТЬ		Всем абонентам			
ПРИЛОЖЕНИЕ		На 31 листах			
ИЗМ.		СОДЕРЖАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ			
1					

Титульный лист

Наименование методики изложить в новой редакции:

«Методика выполнения измерений содержания стрептомицина в продукции животного происхождения с использованием тест-систем Ridascreen®Streptomycin и ПРОДОСКРИН®Стрептомицин»

Листы 2-29 заменить.

Выпущены листы 30-31.

Составил							
Проверил				Н.контр.			
Изменение внес							

КОПИЯ ВЕРНА

СОДЕРЖАНИЕ

1 Область применения **3**
2 Точность измерений **3**
3 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование, материалы, реактивы **5**
3.1 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование, материалы 5
3.2 Реактивы 7
4 Метод измерений **8**
5 Требования безопасности и требования к квалификации операторов **9**
5.1 Общие требования безопасности 9
5.2 Требования безопасности при работе с метанолом 9
5.3 Требования к квалификации операторов 9
6 Условия выполнения измерений **9**
7 Условия инкубации микротитровальных планшетов в помещении **10**
8 Условия хранения тест-систем **10**
9 Подготовка к выполнению измерений **10**
9.1 Отбор образцов 10
9.2 Подготовка лабораторной посуды 10
9.3 Приготовление растворов 11
9.4 Подготовка тест-систем 12
9.5 Подготовка проб 15
10 Выполнение измерений **20**
11 Обработка результатов измерения **21**
11.1 Расчет массовой концентрации 21
12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости **23**
13 Оформление результатов измерений **23**
13.1 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности 23
13.2 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой концентрации стрептомицина с использованием предела измерения 24
13.3 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой концентрации стрептомицина с использованием значения верхней границы диапазона измерений 24
14 Контроль точности результатов измерений **24**
14.1 Оперативный контроль результатов, полученных в условиях повторяемости. 25
14.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности 25
14.3 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости 25
14.4 Контроль правильности 26
14.5 Контроль стабильности результатов измерений с применением контрольных карт Шухарта (КК) 27
15 Нормативные ссылки **30**
Библиография **31**

КОПИЯ ВЕРНА

1 Область применения

Настоящая методика распространяется на сырое, пастеризованное, стерилизованное, сухое восстановленное и сгущенное молоко, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, молочную сыворотку, восстановленную сухую молочную сыворотку, творог, коктейли молочные, кисломолочные продукты (йогурт, сметана, кефир, пахта и т.п.), сыр (мягкий, полутвердый, твердый, сверхтвердый), масло сливочное, мороженое на молочной основе, мясо (мышцы), печень и устанавливает метод конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) для определения содержания стрептомицина.

Методика предназначена для проведения измерений массовой концентрации стрептомицина с использованием тест-систем Ridascreen ® Streptomycin производства R-Biopharm AG, Германия, или тест-систем ПРОДОСКРИН®Стрептомицин, производства Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Диапазон измерений методики составляет:

- для молока сырого, пастеризованного, стерилизованного, молока сухого восстановленного, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, творога, коктейлей молочных, кисломолочных продуктов, мороженого на молочной основе – от 10 мкг/кг до 810 мкг/кг.
- для сгущенного молока – от 40 мкг/кг до 3240 мкг/кг;
- для масла сливочного – от 10 мкг/кг до 1013 мкг/кг[1];
- для мяса, печени, сыра – от 25 мкг/кг до 2025 мкг/кг.

Предел измерения для данной методики составляет:

- для молока сырого, пастеризованного, стерилизованного, молока сухого восстановленного, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, творога, коктейлей молочных, кисломолочных продуктов, мороженого на молочной основе – 10 мкг/кг;
- для сгущенного молока – 40 мкг/кг;
- для масла сливочного – 10 мкг/кг;
- для мяса, печени, сыра – 25 мкг/кг.

Настоящая методика разработана в соответствии с требованиями ГОСТ 8.010.

2 Точность измерений

Настоящая методика обеспечивает измерение массовой концентрации стрептомицина в соответствии с областью применения и в диапазоне, приведенными в п. 1, с показателями точности согласно таблице 1.

[1]Предел измерений и границы диапазона измерений для масла сливочного зависят от его жирности. Здесь и далее по тексту указаны минимальное значение предела измерений и максимальное значение верхней границы диапазона измерений

КОПИЯ ВЕРНА

Таблица 1 – Относительные значения показателей повторяемости и промежуточной прецизионности

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительное стандартное отклонение повторяемости σ_r, %	Относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности $\sigma_{I(IO)}$, %
Молоко сырое, пастеризованное, стерилизованное, молоко сухое восстановленное, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, мороженое на молочной основе	от 10 до 810 включ.	3,9	6,0
Сгущенное молоко	от 40 до 3240 включ.	5,2	8,1
Молочная сыворотка, восстановленная, коктейли молочные, сухая молочная сыворотка, творог, кисломолочные продукты	от 10 до 810 включ.	5,8	7,9
Масло сливочное	от 10 до 1013 включ.	6,3	8,2
Мясо (кроме мяса кролика), сыр	от 25 до 2025 включ.	5,0	7,1
Печень, мясо кролика	от 25 до 2025 включ.	4,5	7,4

Для всех видов продукции в диапазоне измерений методики смещение методики незначимо.

Значения оценок относительной суммарной стандартной неопределенности и относительной расширенной неопределенности приведены в таблице 2.

КОПИЯ ВЕРНА

Таблица 2 – Оценки неопределенности результатов измерений, выполняемых в соответствии с МВИ

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительная суммарная стандартная неопределенность u_c, %	Относительная расширенная неопределенность U, %, $K = 2$, $P = 95$ %
Молоко сырое, пастеризованное, стерилизованное, молоко сухое восстановленное, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, мороженое на молочной основе	от 10 до 810 включ.	8	16
Сгущенное молоко	от 40 до 3240 включ.	8	16
Молочная сыворотка, восстановленная, коктейли молочные, сухая молочная сыворотка, творог, кисломолочные продукты	от 10 до 810 включ.	9	18
Масло сливочное	от 10 до 1013 включ.	11	22
Мясо (кроме мяса кролика), сыр	от 25 до 2025 включ.	10	20
Печень, мясо кролика	от 25 до 2025 включ.	10	20

Указанные выше метрологические характеристики получены на основании данных эксперимента, проведенного в соответствии с:

- показатели прецизионности – СТБ ИСО 5725-2;
- показатели правильности – [1];
- оценки неопределенности – [1], [2].

3 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование, материалы, реактивы

3.1 Средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование, материалы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 высокого класса точности с наибольшим пределом взвешивания не менее 200 г, погрешностью ± 0,01 г.

Автоматический микропланшетный фотометр с фильтром на 450 нм (допускаемая погрешность измерения оптической плотности не более ± 3 %).

Программное обеспечение RIDA ® SOFT, разработчик R-Biopharm AG,

КОПИЯ ВЕРНА

Германия.

Термометр лабораторный частичного погружения класса точности 1 с ценой деления 1 °С по ГОСТ 28498.

pH-метр с диапазоном измерений от 0 pH до14 pH и погрешностью ± 0,1 pH в комплекте с электродами.

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая относительное центробежное ускорение не менее 4000 g (пробирки вместимостью 15 $см^3$, 50 $см^3$) и не менее 20000 g (пробирки вместимостью 1,5 $см^3$ или 2 $см^3$), а также охлаждение до плюс 4 °С.

Холодильник бытовой, позволяющий поддерживать температуру от плюс 2 °С до плюс 8 °С в холодильной камере и не выше минус 20 °С в морозильной камере.

Лабораторный вортекс, обеспечивающий скорость вращения не менее 1800 об/мин.

Лабораторный шейкер, обеспечивающий скорость до 200 об/мин.

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры (40 ± 5) ^{0}С, (50 ± 5) ^{0}С.

Гомогенизатор лабораторный или бытовой блендер.

Дозаторы пипеточные с комплектом одноразовых наконечников:

- с диапазоном объемов дозирования от 20 $мм^3$ до 200 $мм^3$ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального ± 3,0 %;
- с диапазоном объемов дозирования от 100 $мм^3$ до 1000 $мм^3$ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального ± 1,5 %;
- с диапазоном объемов дозирования от 1 $см^3$ до 5 $см^3$ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального ± 1,5 %;
- с диапазоном объемов дозирования от 2 $см^3$ до 10 $см^3$ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального ± 1,0 %;
- многоканальный с диапазоном объемов дозирования от 50 $мм^3$ до 350 $мм^3$ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального ± 4,6 %.

Пленка «парафильм» или скотч.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Шпатели пластиковые.

Штатив для пробирок.

Пипетки Пастера.

Палочки стеклянные оплавленные.

Пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) из полипропилена вместимостью 1,5 $см^3$ или 2 $см^3$.

Пробирки полипропиленовые для центрифугирования вместимостью 15 $см^3$, 50 $см^3$.

Пробирки стеклянные вместимостью 5 $см^3$ или 10 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Колбы мерные вместимостью 100 $см^3$, 1000 $см^3$ типа 2–100–2, 2–1000–2 по ГОСТ 1770.

Колбы конические вместимостью 100 $см^3$, 250 $см^3$, 500 $см^3$ типа Кн–1–100–29/32 ТС, Кн–1–250–29/32 ТС, Кн–1–500–29/32 ТС по ГОСТ 25336.

Воронки типа В-56-80 ХС, В-75-110 ХС по ГОСТ 25336.

Стаканы Н-1 – 50, Н-1 - 100 или Н-1 – 150, Н-2-1000 по ГОСТ 25336.

Пипетки 1-2-5, 1-2-10, 1-2-20, 1-2-25 по ГОСТ 29169.

Цилиндры мерные вместимостью 25 $см^3$, 50 $см^3$, 250 $см^3$ типа 3-25-2, 3-50-2, 3-250-2 по ГОСТ 1770.

Флаконы из темной пластмассы вместимостью 20 [illegible]

КОПИЯ ВЕРНА

Шприц-фильтр или шприц и фильтрующая насадка на шприц диаметром 15 мм и диаметром пор 0,45 мкм на основе целлюлозы.

Использование следующего оборудования не является обязательным, но рекомендуется для увеличения производительности и повышения точности измерений:

- инкубатор для микротитровальных планшетов, обеспечивающий поддержание температуры от плюс 20 °С до плюс 25 °С с точностью не более ± 1 °С;
- устройство отмывки иммунологических планшетов автоматическое с диапазоном объемов моющего раствора, заливаемого в каждую микрокювету от 100 мм^3 до 350 мм^3.

3.2 Реактивы

Метанол ч.д.а по ГОСТ 6995.

н-Гексан ч. по [4].

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Лабораторный детергент, например Triton X-100.

Твин-20, каталожный номер SIGMA P1379, степень чистоты в пересчете на лауриновую кислоту не менее 40 %.

Стрептомицина сульфат с массовой долей основного вещества не менее 90 %.

Натрия фосфат двуосновной дигидрат ($Na_2HP0_4 \cdot 2H_2O$), каталожный номер Fluka 71645 или натрий фосфорнокислый двузамещенный, 12-водный ($Na_2HP0_4 \cdot 12H_2O$) ч.д.а по ГОСТ 4172.

Натрия фосфат одноосновной моногидрат ($NaH_2P0_4 \cdot H_2O$), каталожный номер Sigma-Aldrich 71504 или натрий фосфорнокислый однозамещенный, 2-водный ($NaH_2P0_4 \cdot 2H_2O$) ч.д.а по ГОСТ 245.

Натрий хлористый ч.д.а. по ГОСТ 4233.

Цинк сернокислый семиводный х.ч. по ГОСТ 4174.

Калий железистосинеродистый 3-водный ч.д.а. по ГОСТ 4207.

Натрия гидроокись х.ч. по ГОСТ 4328.

Тест-системы Ridascreen ® Streptomycin (артикульный № R3103) производства фирмы R-Biopharm AG, Германия или тест-системы ПРОДОСКРИН®Стрептомицин, производства Института биоорганической химии НАН Беларуси, арт. № 148 по [3] набор реактивов и микротитровальный планшет, необходимые для выполнения измерений по определению содержания стрептомицина методом иммуноферментного анализа в составе (таблицы 3, 4).

КОПИЯ ВЕРНА

Таблица 3 – Состав тест-системы Ridascreen ® Streptomycin

Компонент набора	Количество в комплекте
Микротитровальный планшет (12 стрипов по 8 лунок, покрытых антителами захвата)	1 шт
Градуировочные растворы стрептомицина с концентрацией 0,0 мкг/дм^3, 0,5 мкг /дм^3, 1,5 мкг /дм^3, 4,5 мкг /дм^3, 13,5 мкг /дм^3, 40,5 мкг/дм^3	6 шт. × 1,3 см^3
Концентрат конъюгата стрептомицина с пероксидазой	1 шт. × 0,7 см^3
Концентрат антител к стрептомицину	1 шт. × 0,7 см^3
Субстрат/хромоген, раствор, окрашенный в красный цвет, содержит тетраметилбензидин	1 шт. × 10 см^3
Стоп-реагент, содержит 1 н серную кислоту	1 шт. × 14 см^3
Буфер, готовый к применению, используется для разбавления концентратов коньюгата, антител и растворов проб	1 шт. × 100 см^3
Моющий буфер, соль для приготовления 10 мМ фосфатного буфера (pH 7,4), содержит 0,05 % твина-20	1 уп.

Таблица 4 – Состав тест-системы ПРОДОСКРИН®Стрептомицин

Компонент набора	Количество в комплекте
Микротитровальный планшет (12 стрипов по 8 лунок, покрытых антителами)	1 шт
Градуировочные растворы стрептомицина с концентрацией 0.0 мкг/дм^3, 0,5 мкг /дм^3, 1,5 мкг /дм^3, 4,5 мкг /дм^3, 13,5 мкг /дм^3, 40,5 мкг/дм^3	6 шт. × 1,3 см^3
Концентрат конъюгата стрептомицина с пероксидазой	1 шт. × 0.7 см^3
Концентрат антител к стрептомицину	1 шт. × 0.7 см^3
Субстрат	1 шт. × 14 см^3
Хромоген, раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ)	1 шт. × 0,7 см^3
Стоп-реагент, содержит 1 н серную кислоту	1 шт. × 14 см^3
Буфер, готовый к применению, используется для разбавления концентратов коньюгата, антител и растворов проб	1 шт. × 100 см^3
Моющий буфер, 10-кратный концентрат	1 шт. × 100 см^3

Примечание: в состав тест-системы ПРОДОСКРИН®Стрептомицин вместо *растворов хромогена и субстрата может быть включен субстрат/хромоген в виде* готового к использованию раствора – 1 шт. × 12 см^3.

Допускается использовать другие средства измерений, испытательное и вспомогательное оборудование по метрологическим и техническим характеристикам, а материалы и реактивы (кроме тест-систем) по качеству не хуже указанных.

4 Метод измерений

Используемый метод основан на взаимодействии антигена (стрептомицина) с антителами. В лунки микротитровального планшета, покрытого антителами захвата (антивидовыми антителами), добавляются градуировочные растворы стрептомицина или растворы проб вместе с коньюгатом стрептомицина с ферментом и антителами к

КОПИЯ ВЕРНА

стрептомицину. Стрептомицин, присутствующий в градуировочных растворах или пробах, и стрептомицин, конъюгированный с ферментом, конкурируют за центры связывания антител к стрептомицину. Одновременно антитела к стрептомицину также связываются с антителами захвата на стенках лунки. Несвязанный конъюгат фермента удаляется на стадии промывки. После добавления раствора(ов) субстрата/хромогена связанный конъюгат фермента превращает хромоген в голубой продукт. Реакция окрашивания останавливается после добавления стоп-реагента, который меняет цвет раствора на желтый.

Измеренная при 450 нм оптическая плотность обратно пропорциональна массовой концентрации стрептомицина в растворе. Массовая концентрация стрептомицина в пробе определяется по градуировочной зависимости, построенной по 6 градуировочным растворам.

5 Требования безопасности и требования к квалификации операторов

5.1 Общие требования безопасности

При выполнении работ по определению массовой концентрации стрептомицина обслуживающий персонал должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования:

- электробезопасности по ГОСТ 12.2.003;
- пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004;
- техники безопасности при работе в химической лаборатории в соответствии с инструкциями, утвержденными в установленном порядке;
- техники безопасности, изложенные в инструкции по эксплуатации средств измерений и оборудования, применяемых при проведении измерений.

5.2 Требования безопасности при работе с метанолом

Персонал, работающий с метанолом и его растворами, должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования инструкции по технике безопасности при работе с метанолом, утвержденной в установленном порядке.

Все работы с метанолом и его растворами должны проводиться строго в вытяжном шкафу с использованием средств индивидуальной защиты (фартуки, перчатки, очки). Запрещается работать с метанолом при выключенной приточно-вытяжной вентиляции и без применения средств индивидуальной защиты.

5.3 Требования к квалификации операторов

К проведению работ по данной методике допускаются лица, имеющие высшее специальное или среднее специальное образование по профилю выполняемых работ, прошедшие обучение приемам работы на оборудовании, освоившие выполнение всех операций, предусмотренных методикой, владеющие техникой постановки иммуноферментного анализа.

6 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха от плюс 20 °С до плюс 25 °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С.

КОПИЯ ВЕРНА

7 Условия инкубации микротитровальных планшетов в помещении

При отсутствии инкубатора микротитровальные планшеты могут инкубироваться в помещении при выполнении следующих условий:

- температура окружающего воздуха должна быть от плюс 20 ^{0}С до плюс 25 ^{0}С;
- не должно происходить попадание прямых солнечных лучей на планшет;
- планшет не должен подвергаться воздействию сильных естественных или искусственных потоков воздуха, вызванных, например, принудительной вентиляцией;
- с целью устранения воздействия холодной поверхности стола, на котором находится планшет, рекомендуется помещать под него теплоизоляционный материал, например, сложенное в несколько слоев бумажное полотенце.
- при низкой относительной влажности воздуха и наличии воздушных потоков с целью устранения возможности испарения содержимого лунок рекомендуется покрывать планшет пленкой «парафильм» или заклеивать скотчем.
- в особых случаях, которые оговорены по тексту МВИ, требуется помещать планшет в защищенное от света место, например, в ящик стола.

8 Условия хранения тест-систем

Хранение тест-систем осуществляется в холодильнике при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в оригинальных флаконах и упаковке. Не допускается замораживание реагентов с целью увеличения их срока хранения и использование тест-систем или их отдельных компонентов по истечении срока хранения, установленного изготовителем.

Хранение неиспользованных стрипов (лунок) осуществляется в холодильнике при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в плотно закрытом оригинальном фольгированном пакете вместе с имеющимся там осушителем.

Необходимо исключить прямое попадание солнечных лучей на светочувствительный раствор хромогена.

9 Подготовка к выполнению измерений

9.1 Отбор образцов

Отбор образцов для анализа проводят по СТБ 1036. Отобранные образцы могут храниться в защищенном от света месте при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение 2-х дней или в замороженном виде при температуре не выше минус 20 °С в течение 14 дней. Перед проведением подготовки проб по п. 9.5 замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

9.2 Подготовка лабораторной посуды

Сильнозагрязненную лабораторную посуду предварительно обрабатывают хромовой смесью. Лабораторную посуду после мойки в растворе специализированного моющего средства промывают водопроводной, ополаскивают дистиллированной водой 2 раза и высушивают.

Запрещается:

- многократное использование одноразовой лабораторной посуды;
- использование бытовых моющих средств для мойки лабораторной посуды.

КОПИЯ ВЕРНА

9.3 Приготовление растворов

9.3.1 Приготовление реактива Карреза I с молярной концентрацией $K_4[Fe(CN)_6]$ 0,36 моль/дм^3

В стакан вместимостью 100 см^3 вносят навеску 7,6 г калия железистосинеродистого 3-водного, взвешенного с точностью до 0,1 г, затем добавляют 13 см^3 - 18 см^3 дистиллированной воды. После растворения навески раствор из стакана количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой. Полученный раствор хранят при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С не более 7 дней.

9.3.2 Приготовление реактива Карреза II с молярной концентрацией $ZnSO_4$ 1,04 моль/дм^3

В стакан вместимостью 100 см^3 вносят навеску 15,0 г цинка сернокислого 7-водного, взвешенную с точностью до 0,1 г, затем добавляют 26 см^3 – 36 см^3 дистиллированной воды. После растворения навески раствор из стакана количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой. Полученный раствор хранят при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С не более 7 дней.

9.3.3 Приготовление фосфатного буфера с твином

Навески натрия фосфата однозамещенного моногидрата массой 0,55 г (или натрия фосфорнокислого однозамещенного 2-водного массой 0,62 г), натрия фосфата двузамещенного дигидрата массой 2,85 г (или натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного массой 5,73 г), хлористого натрия массой 9,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г, помещают в стакан вместимостью 150 см^3 и добавляют 50 см^3 – 70 см^3 дистиллированной воды. После растворения солей раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, добавляют в колбу такое количество дистиллированной воды, чтобы колба заполнилась примерно до половины своей вместимости, приливают отмеренные пипеткой 1 см^3 твина-20, перемешивают до растворения и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С не более одного месяца.

9.3.4 Приготовление 30 % раствора гидроокиси натрия

Навеску гидроокиси натрия массой 15,0 г, взвешенную с точностью до 0,1 г, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3. В колбу приливают 35 см^3 дистиллированной воды, отмеренной цилиндром. После растворения гидроокиси натрия раствор охлаждают до комнатной температуры (от плюс 20 °С до плюс 25 °С).

После приготовления раствора его переносят в полиэтиленовую или фторопластовую посуду и хранят при комнатной температуре (от плюс 20 °С до плюс 25 °С) не более трех месяцев.

9.3.5 Приготовление раствора метанола (2:8 по объему)

В коническую колбу вместимостью 500 см^3 приливают 200 см^3 дистиллированной воды, отмеренные цилиндром, затем приливают отмеренные цилиндром 50 см^3 метанола и перемешивают. Хранят раствор при комнатной

КОПИЯ ВЕРНА

температуре (от плюс 20 °С до плюс 25 °С) в плотно закрытой посуде из темного стекла не более одного месяца в соответствии с установленными правилами хранения метанола и его растворов.

9.4 Подготовка тест-систем

9.4.1 Предварительная подготовка и правила обращения с тест-системами

Тест-систему извлекают из холодильника, не открывая упаковку микротитровального планшета, выдерживают при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С от 0,5 до 1 ч, доводят температуру остальных реагентов от плюс 20 °С до плюс 25 °С.

Растворы из тест-системы следует готовить непосредственно перед проведением ИФА. Перед использованием реагенты необходимо аккуратно перемешать круговыми движениями флакопов.

Замена отдельных реагентов на реагенты из тест-систем других партий не допускается.

Не допускается использование реагентов, имеющих следующие признаки распада:

- голубая окраска раствора хромогена до внесения его в лунки;
- оптическая плотность градуировочного раствора № 1 с концентрацией 0,0 мкг/дм^3 меньше 0,6.

9.4.2 Подготовка микротитровального планшета

Количество лунок микротитровального планшета, необходимых для проведения измерений N_w, рассчитывается по формуле

$$N_w = 12 + 2N_{SMP}, \quad (1)$$

где N_{SMP} – количество образцов;

12 – количество лунок для градуировочных растворов.

Микротитровальный планшет со стрипами, предварительно подготовленными в соответствии с п. 9.4.1, вынимают из упаковки. В микротитровальный планшет помещают необходимое количество стрипов, рассчитанное исходя из требуемого для проведения измерений количества лунок N_w. Оставшиеся стрипы сразу же помещают в упаковку, закрывают и хранят в соответствии с разделом 8.

Размечают положения лунок, предназначенные для градуировочных растворов и растворов проб, согласно рисунку 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	С-1	С-1	П-3	П-3	П-11	П-11						
B	С-2	С-2	П-4	П-4	П-12	П-12						
C	С-3	С-3	П-5	П-5	П-13	П-13						
D	С-4	С-4	П-6	П-6	П-14	П-14						
E	С-5	С-5	П-7	П-7	П-15	П-15						
F	С-6	С-6	П-8	П-8	П-16	П-16						
J	П-1	П-1	П-9	П-9	П-17	П-17						
G	П-2	П-2	П-10	П-10	П-18	П-18						

Рисунок 1 - Схема расположения лунок для градуировочных растворов и растворов проб

Российский государственный институт
Отдел научно-технической информации и нормативной документации
КОПИЯ ВЕРНА

где C-1, C-2, … C-6 – градуировочные растворы,
$П$-1, $П$-2, … $П$-18 - исследуемые пробы,
1,2,3….12 - номера стрипов в планшете,
A, B, … G - обозначения лунок в стрипах.

При необходимости одновременно использовать более 6-ти стрипов рекомендуется выполнять анализ в несколько этапов.

9.4.3 Приготовление моющего буфера

При использовании тест-систем Ridascreen ® Streptomycin в зависимости от планируемого срока использования моющий буфер готовят двумя приведенными ниже способами.

- **Способ 1.** Содержимое пакета для приготовления моющего буфера количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3. Добавляют небольшое количество дистиллированной воды, содержимое колбы перемешивают до полного растворения осадка, после чего доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор хранят при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С не более 6 недель в стеклянной или полиэтиленовой посуде.
- **Способ 2.** Содержимое пакета для приготовления моющего буфера количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Добавляют 50 – 60 см^3 дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения осадка и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный концентрированный раствор (10-кратное концентрирование) хранят при температуре от плюс 20°С до плюс 25 °С не более 12 недель. Для приготовления готового раствора моющего буфера 10 см^3 концентрата переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой.

При использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Стрептомицин моющий буфер готовят следующим образом. Содержимое флакона с концентратом моющего буфера интенсивно встряхивают в течение (10-20) с, в случае образования кристаллов – подогревают на водяной бане при температуре 50 °С. Отмеренный мерным цилиндром необходимый объем концентрата наливают в стакан вместимостью 1000 см^3, после чего в стакан наливают в 9 раз больший объем дистиллированной воды и перемешивают. Полученный раствор хранят при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С не более месяца в стеклянной или полиэтиленовой посуде.

9.4.4 Приготовление раствора субстрата/хромогена (только при использовании тест-систем ПРОДОСКРИН®Стрептомицин)

Раствор субстрата/хромогена готовят непосредственно перед выполнением ИФА из растворов субстрата и хромогена, подготовленных по п. 9.4.1. Посуда, используемая при приготовлении раствора субстрата/хромогена, моется без применения синтетических моющих средств.

В чистый флакон из темной пластмассы вместимостью 20 см^3 приливают необходимое количество субстрата, отмеренного дозатором, и добавляют в 20 раз меньшее по объему количество раствора хромогена, интенсивно перемешивают в течение (30-40) с. Приготовленный раствор необходимо предохранять от воздействия света. Приготовленный раствор хранению не подлежит.

Объем используемой аликвоты V, см^3, раствора хромогена рассчитывается на основании количества используемых в анализе лунок микротитровального планшета $N_л$, по формуле

КОПИЯ ВЕРНА

$$V = \frac{0{,}1 \cdot N_w + V_1}{21}, \qquad (2)$$

где V_1 – объем раствора субстрата/хромогена, приготавливаемого в запас, см^3 (не менее 0,1 см^3).

9.4.5 Приготовление рабочего раствора конъюгата

Концентрат конъюгата стрептомицина подготавливают по п. 9.4.1 и перемешивают непосредственно перед приготовлением рабочего раствора конъюгата.

В пробирку вместимостью 5 см^3 или 10 см^3 добавляют отмеренные дозатором буфер для разбавления концентрата конъюгата, антител и растворов проб объемом $V_б$, мм^3, и аликвоту концентрата конъюгата стрептомицина объемом $V_а$, мм^3. Содержимое пробирки тщательно перемешивают. Концентрат конъюгата сразу же убирают в холодильник и хранят в соответствии с п. 8.

Требуемый объем концентрата конъюгата и буфера для разбавления рассчитывают по формулам

$$\begin{aligned} V_а &= 5 \cdot N_W + 0{,}1 \cdot A \\ V_б &= 10 \cdot V_а \end{aligned}, \qquad (3)$$

где N_w – количество лунок, используемых в анализе, определяется согласно п. 9.4.2;

A – объем рабочего раствора конъюгата, приготавливаемого в запас, мм^3 (не менее 100 мм^3).

Примечание: рабочий раствор конъюгата готовится не более чем за 15 мин до выполнения ИФА.

9.4.6 Приготовление рабочего раствора антител

Концентрат антител к стрептомицину подготавливают по п. 9.4.1 и перемешивают непосредственно перед приготовлением рабочего раствора антител.

В пробирку вместимостью 5 см^3 или 10 см^3 добавляют отмеренные дозатором буфер для разбавления концентрата конъюгата, антител и растворов проб объемом $V_б$, мм^3, и аликвоту концентрата антител к стрептомицину объемом $V_а$, мм^3. Содержимое пробирки тщательно перемешивают. Концентрат антител сразу же убирают в холодильник и хранят в соответствии с п. 8.

Требуемый объем концентрата антител и буфера для разбавления рассчитывают по формулам (3).

Примечание: рабочий раствор антител готовится не более чем за 15 мин до выполнения ИФА.

КОПИЯ ВЕРНА
Отдел научно-технической информации и нормативной документации

9.5 Подготовка проб

9.5.1 Подготовка проб молока, мороженого, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания

9.5.1.1 Предварительная подготовка образцов

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с п. 9.1. Доводят температуру образца от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре.

Образец сырого, пастеризованного, стерилизованного молока перемешивают путем встряхивания и переворачивания представленной упаковки. Сухое молоко тщательно перемешивают и восстанавливают в соответствии с п.9.5.1.2. Из образца мороженого удаляют немолочные компоненты и тщательно перемешивают.

9.5.1.2 Восстановление сухого молока, сухих молочных смесей для детского питания

В стаканы вместимостью 100 $см^3$ или 150 $см^3$ помещают 2 параллельные навески образца сухого молока, подготовленного по п. 9.5.1.1, взвешенные с погрешностью не более 0,1 г. Массы навесок в зависимости от содержания жира составляют:

- 9,0 г сухого обезжиренного молока;
- 12,0 г сухого молока с содержанием жира 20 %;
- 12,5 г сухого молока с содержанием жира 25 %;
- 10,0 г сухого молока с содержанием жира, отличным от перечисленного выше.

Затем в стаканы с навесками порциями по 5 – 10 $см^3$ приливают дистиллированную воду, перемешивая содержимое стеклянной палочкой до полного растворения образца. После растворения сухого молока растворы из стаканов количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Восстановление проб сухих молочных смесей для детского питания производят по приведенной выше схеме, используя отношение массы смеси к объему воды, указанное в инструкции производителя.

Далее пробы подвергают процедуре обезжиривания, описанной в п. 9.5.1.3.

9.5.1.3 Получение проб обезжиренного молока, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, мороженого

От образцов молока, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания или мороженого, подготовленных по п. 9.5.1.1, п. 9.5.1.2,с помощью дозатора отбирают по две параллельные пробы объемом 10 $см^3$ и помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 $см^3$. Центрифугируют пробы в следующем режиме: 15 °С, 3000 g, 10 мин.

При отсутствии центрифуги с охлаждением отобранный для анализа объем молока перед центрифугированием выдерживают в морозильной камере холодильника в течение 10-15 мин, охлаждая пробы молока до температуры от плюс 8 °С до плюс 10 °С, контролируя температуру термометром.

Шпателем или пипеткой Пастера удаляют верхний жировой слой, образовавшийся на поверхности пробы после центрифугирования.

Для обезжиренного молока описанную выше процедуру по удалению жира не

КОПИЯ ВЕРНА

производят.

9.5.1.4 Получение растворов проб молока, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, мороженого

Из каждой пробы, подготовленной по п. 9.5.1.3, отбирают дозатором аликвоты объемом по 50 мм^3 и помещают их в стеклянные пробирки вместимостью 5 см^3 или 10 см^3 или микроцентрифужные пробирки, предварительно очистив наконечник дозатора фильтровальной бумагой от следов жира. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 950 мм^3 буфера для разбавления образцов. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более одного часа.

Перед отбором аликвот для проведения ИФА растворы перемешивают.

9.5.2 Подготовка проб мяса (кроме мяса кролика), сыра

9.5.2.1 Получение экстракта проб мяса, сыра

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 9.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре. Образцы мяса гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера. При подготовке проб сыра отделяют тесто от корки, полимерно-парафинового или воскового сплава, измельчают тесто с помощью терки и перемешивают.

От гомогенизированного образца отбирают две параллельные навески массой 5,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. Навески помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 50 см^3 и в каждую пробирку добавляют отмеренные пипеткой или дозатором 20 см^3 фосфатного буфера с твином, приготовленного по п. 9.3.3. Содержимое пробирок интенсивно перемешивают на шейкере 30 мин, после чего центрифугируют при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин.

9.5.2.2 Обезжиривание экстракта проб мяса с высоким содержанием жира и сыра

Отбирают дозатором по 5 см^3 надосадочной жидкости, полученной по п. 9.5.2.1, и переносят в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см^3, содержащие 3 см^3 н-гексана, отмеренного пипеткой или дозатором. Пробирки интенсивно встряхивают в течение 5 мин, после чего центрифугируют при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин. После центрифугирования из пробирок полностью удаляют пипеткой Пастера или дозатором верхний органический слой.

9.5.2.3 Получение растворов проб мяса, сыра

Отбирают дозатором аликвоты экстрактов, полученных по п. 9.5.2.1 или п. 9.5.2.2, объемом по 50 мм^3 и помещают их в стеклянные пробирки вместимостью 5 см^3 или 10 см^3 или микроцентрифужные пробирки. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 450 мм^3 буфера для разбавления образцов или фосфатного буфера с твином, приготовленного по п. 9.3.3. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С

КОПИЯ ВЕРНА

одного часа.

Перед отбором аликвот для проведения ИФА растворы перемешивают.

9.5.3 Подготовка проб печени, мяса кролика

9.5.3.1 Получение экстракта проб печени, мяса кролика

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 9.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре. Образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

От гомогенизированного образца отбирают две параллельные навески массой 5,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. Навески помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 50 $см^3$ и в каждую пробирку добавляют отмеренные пипеткой или дозатором 20 $см^3$ фосфатного буфера с твином, приготовленного по п. 9.3.3. Содержимое пробирок интенсивно перемешивают на шейкере 30 мин, после чего центрифугируют при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин.

9.5.3.2 Осаждение белков при помощи реактивов Карреза

Отбирают дозатором по 4 $см^3$ надосадочной жидкости, полученной по п. 9.5.3.1, и переносят в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 $см^3$. В пробирки добавляют отобранные дозатором по 100 $мм^3$ реактива Карреза I, 100 $мм^3$ реактива Карреза II, приготовленных по пп. 9.3.1, 9.3.2, и 800 $мм^3$ дистиллированной воды, после чего встряхивают пробирки в течение 10 с. Пробирки центрифугируют при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин.

9.5.3.3 Обезжиривание экстракта проб печени, мяса кролика

Отбирают дозатором по 2 $см^3$ надосадочной жидкости, полученной по п. 9.5.3.2, и переносят в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 $см^3$, содержащие 3 $см^3$ н-гексана, отмеренного пипеткой или дозатором. Пробирки интенсивно встряхивают в течение 5 мин, после чего центрифугируют при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С, 4000 g, в течение 10 мин. После центрифугирования из пробирок полностью удаляют пипеткой Пастера или дозатором верхний органический слой.

9.5.3.4 Получение растворов проб печени, мяса кролика

Отбирают дозатором аликвоты водного раствора, полученного по п. 9.5.3.3, объемом по 100 $мм^3$ и помещают их в стеклянные пробирки вместимостью 5 $см^3$ или 10 $см^3$ или микроцентрифужные пробирки. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 700 $мм^3$ буфера для разбавления образцов или фосфатного буфера с твином, приготовленного по п. 9.3.3. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более одного часа.

Перед отбором аликвот для проведения ИФА растворы перемешивают.

9.5.4 Подготовка проб творога, кисломолочных продуктов

9.5.4.1 Получение экстрактов проб творога, кисломолочных продуктов

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 9.1, от плюс

Отдел научно-технической информации и нормативной документации
КОПИЯ ВЕРНА

20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре. При наличии в образцах кисломолочных продуктов частиц твердой консистенции их отбрасывают. Образцы творога гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера, другие образцы кисломолочной продукции тщательно перемешивают.

От гомогенизированного образца отбирают две параллельные навески массой 5,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. Навески помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см^3 и выдерживают на водяной бане при температуре (50 ± 5) ^{0}С. Содержимое пробирок интенсивно перемешивают на вортексе, после чего центрифугируют в следующем режиме: 10 °С, 4000 g, в течение 10 мин.

9.5.4.2 Получение растворов проб творога, кисломолочных продуктов

Отбирают дозатором по 50 мм^3 надосадочной жидкости, полученной по п. 9.5.4.1, и переносят в стеклянные пробирки вместимостью 5 см^3 или 10 см^3 или микроцентрифужные пробирки. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 950 мм^3 буфера для разбавления образцов. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более одного часа.

Перед отбором аликвот для проведения ИФА растворы перемешивают.

9.5.5 Подготовка проб молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки

9.5.5.1 Восстановление сухой молочной сыворотки

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с п. 9.1. Доводят температуру образца от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре.

В стаканы вместимостью 100 см^3 или 150 см^3 помещают 2 параллельные навески образца массой 12,5 г, взвешенные с точностью до 0,1 г.

Затем приливают небольшими порциями по 10 – 20 см^3 дистиллированную воду, нагретую до температуры (40 ± 5) ^{0}С, перемешивая содержимое стеклянной палочкой до полного растворения образца. После растворения навески растворы из стаканов количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100 см^3, доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают и выдерживают 15 мин при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С.

9.5.5.2 Предварительная подготовка проб молочной сыворотки и восстановленной сухой молочной сыворотки

Для получения растворов проб используют образец молочной сыворотки, отобранный в соответствии с п. 9.1, температуру которого доводят от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая при комнатной температуре, или проб восстановленной сухой молочной сыворотки, приготовленных по п. 9.5.5.1.

В стаканы вместимостью 150 см^3 наливают по 70 - 90 см^3 проб, подготовленных как описано выше, и доводят их pH до 7,0, добавляя по каплям 30 % раствор

Отдел научно-технической информации и нормативной документации
КОПИЯ ВЕРНА

гидроокиси натрия, приготовленный по п. 9.3.4.

9.5.5.3 Получение экстрактов проб молочной сыворотки и восстановленной сухой молочной сыворотки

Получение экстрактов проб молочной сыворотки и восстановленной сухой молочной сыворотки проводят в соответствии с п. 9.5.4.1, используя при этом предварительно подготовленные пробы по п. 9.5.5.2.

9.5.5.4 Получение растворов проб молочной сыворотки и восстановленной сухой молочной сыворотки

Получение растворов проб молочной сыворотки и восстановленной сухой молочной сыворотки проводят в соответствии с п. 9.5.4.2, используя при этом экстракты проб, приготовленные по п. 9.5.5.3.

9.5.6 Подготовка проб сгущенного молока

9.5.6.1 Получение восстановленного сгущенного молока

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 9.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре и тщательно перемешивают.

В стаканы вместимостью 100 $см^3$ или 150 $см^3$ помещают 2 параллельные навески образца массой 25,0 г, взвешенные с точностью до 0,1 г.

Затем в стаканы с навесками порциями по 5 – 10 $см^3$ приливают дистиллированную воду, нагретую до температуры (30 ± 2) °С, перемешивая содержимое стеклянной палочкой до полного растворения образца. После растворения образца содержимое стаканов количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Далее пробы восстановленного сгущенного молока подвергают процедуре обезжиривания по п. 9.5.6.2, для проб восстановленного обезжиренного сгущенного молока эту процедуру не производят.

9.5.6.2 Получение обезжиренного восстановленного сгущенного молока

Получение проб обезжиренного восстановленного сгущенного молока проводят в соответствии с п. 9.5.1.3, используя при этом пробы восстановленного сгущенного молока, приготовленные по п. 9.5.6.1.

9.5.6.3 Получение растворов проб сгущенного молока

Получение растворов проб сгущенного молока проводят в соответствии с п. 9.5.1.4, используя при этом пробы обезжиренного восстановленного сгущенного молока, приготовленные по п. 9.5.6.2 или восстановленного обезжиренного сгущенного молока, приготовленные по п. 9.5.6.1.

9.5.7 Подготовка проб масла

9.5.7.1 Получение экстрактов проб масла

Образец масла, отобранный в соответствии с п. 9.1, охлажденный до температуры не выше минус 10 °С, измельчают с помощью терки и перемешивают.

Отдел научно-технической информации и нормативной документации
КОПИЯ ВЕРНА

Доводят температуру образца масла от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре.

От образца масла отбирают две параллельные навески массой 1,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г, и помещают их в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 $см^3$. Выдерживают пробирки на водяной бане при температуре (40 ± 5) °С до полного расплавления навески масла.

Сразу же после расплавления масла в пробирки с пробами добавляют 1 $см^3$ гексана, отмеренного дозатором, и интенсивно перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Добавляют в пробирки отмеренный дозатором 1 $см^3$ раствора метанола (2:8 по объему), приготовленного по п. 9.3.5. Содержимое пробирок интенсивно перемешивают на вортексе в течение 10 с, после чего продолжают перемешивание при переворачивании на ротаторе в течение 10 мин.

Центрифугируют пробирки при 4 °С, 2000 g, в течение 10 мин. Осторожно удаляют верхний гексановый слой с помощью пипетки Пастера.

В пробирки с пробами снова добавляют 1 $см^3$ гексана, отмеренного дозатором, и интенсивно перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Повторяют центрифугирование при 4 °С, 2000 g, в течение 10 мин, после чего осторожно удаляют верхний гексановый слой пипеткой Пастера.

1 $см^3$ водного слоя переносят дозатором в пробирки для центрифугирования вместимостью 1,5 $см^3$ или 2 $см^3$. Пробирки помещают на лед и выдерживают в течение 15 мин. После этого проводят центрифугирование при температуре от 20 ^{0}С до 25 ^{0}С, 20000 g, в течение 10 мин. При отсутствии центрифуги, обеспечивающей вышеуказанный режим, вместо центрифугирования проводят фильтрование через шприц-фильтр.

9.5.7.2 Получение растворов проб масла

Отбирают дозатором 50 $мм^3$ водной фазы по п. 9.5.7.1 и переносят в стеклянные пробирки вместимостью 5 $см^3$ или 10 $см^3$ или микроцентрифужные пробирки. Затем в пробирку дозатором добавляют 800 $мм^3$ буфера для разбавления растворов образцов, и тщательно перемешивают содержимое пробирок на вортексе.

Полученные растворы проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С в течение одного часа.

10 Выполнение измерений

Для проведения измерений используют пробы, подготовленные в соответствии с п. 9.5. Компоненты тест-систем подготавливают в соответствии с п. 9.4.

10.1 В лунки микротитровального планшета, размеченного согласно п. 9.4.2, вносят отобранные дозатором по две аликвоты объемом 50 $мм^3$ каждого градуировочного раствора. Каждую аликвоту вносят в отдельную лунку, внесение производится в порядке возрастания концентраций градуировочных растворов (т.е. 0,0, 0,5, 1,5, 4,5, 13,5, 40,5 мкг/$дм^3$).

10.2 В соответствующие лунки микротитровального планшета вносят отобранные дозатором аликвоты объемом 50 $мм^3$ двух параллельных проб каждого образца.

10.3 В каждую лунку микротитровального планшета вносят отобранные дозатором 50 $мм^3$ рабочего раствора конъюгата, приготовленного по п. 9.4.5, и 50 $мм^3$ раствора

раствора антител, приготовленного по п. 9.4.6. Аккуратными круговыми движениями планшета по поверхности стола перемешивают содержимое. Встряхивания, постукивания планшетом по столу не допустимы.

10.4 Помещают планшет в инкубатор при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С и инкубируют в течение 60 мин. При отсутствии инкубатора микротитровальный планшет инкубируют в течение 60 мин в защищенном от света месте при условиях, указанных в разделе 7.

10.5 По окончании инкубации жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания планшета.

10.6 Промывают планшет три раза, добавляя при этом каждый раз многоканальным дозатором в лунки планшета по 250 мм^3 моющего буфера, приготовленного по п. 9.4.3, и затем выливая его резким переворачиванием планшета. После последнего промывания планшет переворачивают и удаляют остатки жидкости путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому листом сухой фильтровальной бумаги.

Примечание: В процессе работы следует избегать высыхания лунок в перерывах между отдельными этапами работы и увеличения перерывов. Точность результатов измерений зависит от равномерного промывания лунок, поэтому следует строго соблюдать процесс промывки. Рекомендуется проводить процедуру промывки планшета с помощью устройства для промывки планшетов, задавая следующие параметры программы: количество циклов промывки – от 3 до 4, объем используемого промывочного раствора – 250 мм^3.

10.7 В каждую лунку планшета дозатором вносят по 100 мм^3 раствора субстрата/хромогена. Аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают его содержимое.

10.8 Помещают планшет в инкубатор при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С и инкубируют в течение 15 мин. Отсчет времени инкубации начинают немедленно после окончания внесения раствора субстрата/хромогена. При отсутствии инкубатора микротитровальный планшет инкубируют в течение 15 мин в защищенном от света месте, при условиях, указанных в разделе 7.

10.9 Сразу же после окончания инкубации в каждую лунку планшета дозатором вносят по 100 мм^3 раствора стоп-реагента и аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают его содержимое.

10.10 В течение 15 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке планшета на автоматическом микропланшетном фотометре при длине волны 450 нм. Измерения проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

11 Обработка результатов измерения

11.1 Расчет массовой концентрации

Обработка результатов измерений оптической плотности производится с помощью программного обеспечения "RIDA®Soft", разработанного R-Biopharm AG (Германия), далее «программное обеспечение».

Примечание: техническая помощь и поддержка программного обеспечения осуществляется официальным представителем компании R-Biopharm в РФ – ООО

Отсутствует техническая информация в прилагаемой документации

КОПИЯ ВЕРНА

«КомПродСервис» при предоставлении протоколов, выданных указанным программным обеспечением.

Программное обеспечение автоматически осуществляет:

- построение градуировочной зависимости концентрация – относительная оптическая плотность ($100B_i/B_0$), где B_i – оптическая плотность i –го градуировочного раствора ($i = 2..6$), B_0 – оптическая плотность 1–го градуировочного раствора с концентрацией 0,0 мкг/дм^3 стрептомицина;
- расчет фактического значения массовой концентрации стрептомицина в пробах на основании рассчитанного значения относительной оптической плотности и задаваемого оператором фактора разбавления.

Для получения результата измерений задают следующие настройки:

- фактор разбавления (Samples→Dilution factor) согласно таблице 5;
- количество параллельных определений образца (Samples→Replicates) – 1;
- количество параллельных определений стандарта (Standards→Replicates) – 2.

Таблица 5 – Факторы разбавления

Виды продукции	Значения фактора разбавления
Мясо, печень, сыр	50
Молоко сырое, пастеризованное, стерилизованное и сухое восстановленное, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, творог, коктейли молочные, кисломолочные продукты, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, мороженое на молочной основе	20
Молоко сгущенное	80
Масло сливочное 50 % жирности	25
Масло сливочное 65 %, 67 % жирности	22,5
Масло сливочное 70 %, 72,5 % жирности	21,5
Масло сливочное 75 %, 78 % жирности	20,5
Масло сливочное 82,5 %, 84 % жирности	19,5

За окончательный результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух измерений параллельных проб при выполнении условия повторяемости по п. 12

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (4)$$

где X_1, X_2 – результаты двух измерений массовой концентрации стрептомицина в параллельных пробах, мкг/кг, полученные при помощи программного обеспечения.

Окончательный результат измерений округляют до целого числа.

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается меньше, чем значение предела измерений, указанное в разделе 1, то дается односторонняя оценка массовой концентрации стрептомицина в образце с использованием предела измерения согласно п. 13.2.

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается больше, чем значение

Отдел научно-технической информации и нормативной документации
КОПИЯ ВЕРНА

верхней границы диапазона измерений, указанное в разделе 1, то дается односторонняя оценка массовой концентрации стрептомицина в образце с использованием значения верхней границы предела измерений согласно п. 13.3.

12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6 следующим образом.

Рассчитывают расхождение между результатами измерений параллельных проб одного образца $|X_1 - X_2|$, значение которого сравнивают с абсолютным значением предела повторяемости r_{abs}. Если выполняется условие

$$|X_1 - X_2| \le r_{abs}, \quad (5)$$

то оба результата считают приемлемыми и в качестве результата измерений указывают среднее арифметическое значение $\overline{X}$, рассчитанное по формуле (4).

Абсолютное значение предела повторяемости r_{abs}, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$r_{abs} = 0{,}01 \cdot r \cdot \overline{X}, \quad (6)$$

где $\overline{X}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений параллельных проб одного образца, мкг/кг;

r – относительное значение предела повторяемости, приведенное в таблице 6, %.

При невыполнении условия (5) проводят повторные измерения согласно разделу 10.

13 Оформление результатов измерений

13.1 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности

Результат измерений, выдаваемый лабораторией, может быть представлен в виде

$$\left(\overline{X} \pm U(X)\right), \text{ мкг/кг}$$

при доверительной вероятности P = 0,95, K=2

где $\overline{X}$ – результат измерений, мкг/кг, полученный в соответствии с настоящей методикой и рассчитанный согласно разделу 11;

$U(X)$ – расширенная неопределенность результатов измерений, мкг/кг.

Расширенную неопределенность результата измерений $U(X)$, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$U(X) = 0{,}01 \cdot U \cdot \overline{X}, \quad (7)$$

где U – относительная расширенная неопределенность результата измерений, выполняемых в соответствии с МВИ, %, приведенная в таблице 2.

При необходимости может быть проведена оценка расширенной неопределенности измерений, выполняемых в соответствии с данной МВИ, при ее реализации в конкретной лаборатории.

Отдел технической информации и нормативной документации
КОПИЯ ВЕРНА

13.2 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой концентрации стрептомицина с использованием предела измерения

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается меньше, чем предел измерения X_{LQ}, равный:

- для молока сырого, пастеризованного, стерилизованного, молока сухого восстановленного, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, творога, коктейлей молочных, кисломолочных продуктов, мороженого на молочной основе – 10 мкг/кг;
- для сгущенного молока – 40 мкг/кг;
- для масла сливочного – (0,5×Фактор разбавления) мкг/кг,
- для мяса, печени, сыра – 25 мкг/кг,

то дается односторонняя оценка массовой концентрации стрептомицина в образце с использованием вышеуказанного предела измерения, в мкг/кг

менее X_{LQ},

где X_{LQ} – значение предела измерений, приведенное выше.

13.3 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой концентрации стрептомицина с использованием значения верхней границы диапазона измерений

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается больше, чем значение верхней границы диапазона измерений X_{HL}, равное:

- для молока сырого, пастеризованного, стерилизованного, молока сухого восстановленного, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания,молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, творога, коктейлей молочных, кисломолочных продуктов, мороженого на молочной основе – 810 мкг/кг;
- для сгущенного молока – 3240 мкг/кг;
- для масла сливочного – (40,5×Фактор разбавления) мкг/кг,
- для мяса, печени, сыра – от 25 мкг/кг до 2025 мкг/кг,

то дается односторонняя оценка массовой концентрации стрептомицина в образце с использованием значения верхней границы диапазона измерений, в мкг/кг

более X_{HL},

где X_{HL} – значение верхней границы диапазона измерений, приведенное выше.

14 Контроль точности результатов измерений

Контроль точности результатов измерений выполняется с периодичностью, установленной системой менеджмента качества в лаборатории, но обязательно:

- при внедрении методики;
- при появлении факторов, влияющих на стабильность процесса по результатам анализа контрольных карт;
- при значимых изменениях в условиях измерений (другая партия реактивов, новые средства измерений, ремонт оборудования и т.д.);
- при любых выявленных несоответствиях в работе лаборатории, применительно к методике выполнения измерений.

КОПИЯ ВЕРНА

14.1 Оперативный контроль результатов, полученных в условиях повторяемости

Оперативный контроль повторяемости выполняется для каждой пробы после измерения концентрации стрептомицина при расчете конечного результата измерений по результатам двух параллельных определений в соответствии с п. 12.

14.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6 следующим образом.

Лаборатория получает два результата измерений $\overline{X_1}, \overline{X_2}$ согласно разделу 10, варьируя факторы промежуточной прецизионности оператор, время и обеспечивая контроль повторяемости по п. 12. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение двух результатов $\overline{X_1}, \overline{X_2}$

$$\overline{\overline{X}} = \frac{\overline{X_1} + \overline{X_2}}{2}, \tag{8}$$

при их соответствии критерию приемлемости.

Критерием приемлемости является условие

$$\left|\overline{X_1} - \overline{X_2}\right| \le \mathrm{CD}_{\text{абс}}, \tag{9}$$

где $CD_{абс}$ – абсолютное значение критической разности, мг/кг, рассчитываемое по формуле

$$CD_{\text{абс}} = 0{,}01 \cdot CD \cdot \overline{\overline{X}}, \tag{10}$$

где CD – относительное значение критической разности, приведенное в таблице 6, %.

14.3 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6 следующим образом.

Каждая из двух лабораторий проводит измерения согласно разделу 10 и получает результат измерений, обеспечивая контроль повторяемости по п. 12.

Рассчитывают среднее арифметическое значение $\overline{\overline{X}}$, мкг/кг, результатов измерений двух лабораторий $\bar{X}_1$ и $\bar{X}_2$ соответственно

$$\overline{\overline{X}} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2}{2} \tag{11}$$

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами измерений $\left|\bar{X}_1 - \bar{X}_2\right|$, полученными в двух лабораториях, значение которого сравнивают с абсолютным значением критической разности CD_R. Если выполняется условие

$$\left|\bar{X}_1 - \bar{X}_2\right| \le CD_R \tag{12}$$

КОПИЯ ВЕРНА

то оба конечных результата, полученные двумя лабораториями считаются приемлемыми и общее среднее значение $\overline{\overline{X}}$, рассчитанное по формуле (11), может быть использовано в качестве заявляемого результата.

Абсолютное значение критической разности CD_R, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$CD_R = 0{,}01 \cdot k \cdot CD \cdot \overline{\overline{X}}, \quad (13)$$

где $\overline{\overline{X}}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений двух лабораторий, мкг/кг;

k – коэффициент, равный 1,3;

CD – относительное значение критической разности, %, приведенное в таблице 6.

При превышении значения критической разности для разрешения различий между результатами, полученными двумя лабораториями, используют процедуры, указанные в разделе 5 СТБ ИСО 5725-6.

Таблица 6 – Относительные значения предела повторяемости, критической разности и норматива контроля правильности

Виды продукции	Предел повторяемости r, %	Критическая разность CD, %	Норматив контроля правильности $K_{отн.}$, %
Молоко сырое, пастеризованное, стерилизованное, молоко сухое восстановленное, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, мороженое на молочной основе	11	15	14
Сгущенное молоко	15	21	18
Молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, творог, коктейли молочные, кисломолочные продукты	16	19	17
Масло сливочное	18	20	18
Мясо (кроме мяса кролика), сыр	14	17	16
Печень, мясо кролика	13	19	17

14.4 Контроль правильности

Контроль правильности при определении массовой концентрации стрептомицина производится путем анализа образцов для контроля (ОК) с заранее известным значением концентрации вещества (рабочая проба с добавкой).

Контроль правильности проводится с использованием добавок стрептомицина. Неопределенность значения массовой концентрации стрептомицина в ОК не должна превышать одной трети от значения неопределенности результата измерений.

14.4.1 ОК, представляющим собой рабочие пробы с добавкой

Данные образцы для контроля представляют собой навеску пробы, массовая концентрация стрептомицина в которой менее предела измерения данной МВИ, которую внесена добавка раствора стрептомицина. Добавка вносится непосредственно

КОПИЯ ВЕРНА

пробирки с навесками (аликвотами) проб. Значение массовой концентрации стрептомицина X_{am}, мкг/кг, в пробе с добавкой рассчитывается по формуле

$$X_{am} = \frac{C_{ST} \cdot V_{ST}}{m}, \quad (14)$$

где C_{ST} – концентрация раствора стрептомицина, нг/см^3;

V_{ST} – объем раствора стрептомицина, см^3;

m – масса навески пробы, г.

Величина массовой концентрации стрептомицина в пробе с добавкой должна находиться в диапазоне измерений.

Для внесения добавки используется раствор, приготовленный из стрептомицина сульфата в соответствии с рекомендациями производителя. Допускается использовать готовые растворы для добавки (spike-растворы) стрептомицина, при условии, что относительная стандартная неопределенность концентрации стрептомицина в них не превышает 3 %.

14.4.2 Проведение контрольной процедуры

Получают результаты измерений ОК в соответствии с требованиями раздела 10.

За результат контрольного измерения принимают результат измерения массовой концентрации стрептомицина $\overline{X_K}$ в ОК, мкг/кг, рассчитанный по формуле (4) при выполнении условия повторяемости по п. 12.

Критерием приемлемости является условие

$$\left|\overline{X_K} - X_{am}\right| \le 0{,}01 \cdot K_{опт.} \cdot \overline{X_K}, \quad (15)$$

где $K_{опт.}$ – относительный норматив контроля правильности, %, приведенный в таблице 6;

X_{am} – рассчитанное значение массовой концентрации стрептомицина в ОК, мкг/кг.

При невыполнении данного условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (15) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

14.5 Контроль стабильности результатов измерений с применением *контрольных карт Шухарта (КК)*

С помощью КК контролируют следующие показатели точности:

- повторяемость (R-карта или карта размахов);
- наличие смещения или правильность (Recovery-карта).

Подготовка и оформление исходных данных, расчеты параметров КК, ведение, управление и интерпретация КК должны осуществляться в соответствии с требованиями [5] и СТБ ИСО 5725-6, раздел 6.

Для проверки стабильности соответствия результатов испытаний показателям повторяемости, установленным данной методикой, применяются КК с заданными стандартными значениями. В этом случае для построения КК используют показатели повторяемости в соответствии с таблицей 1.

КОПИЯ ВЕРНА

Примечание: При применении КК в течение длительного времени, для расчета границ КК могут быть использованы данные измерений, накопленные в процессе ведения и обработки КК. Однако соответствие результатов измерений требованиям данной методики может быть заявлено только в том случае, если показатель повторяемости, рассчитанный по накопленным лабораторией данным, статистически не превышает установленных методикой значений.

Для построения и ведения R-карт в качестве образцов для контроля (ОК) могут использоваться рабочие образцы.

Для построения и ведения Recovery-карт используются ОК, представляющие собой рабочие пробы с добавками раствора стрептомицина, приготовленного из стрептомицина сульфата в соответствии с прилагаемой к нему инструкцией. Допускается использовать готовые растворы для добавки (spike-растворы) стрептомицина, при условии, что относительная стандартная неопределенность концентрации стрептомицина в них не превышает 3 %.

Предварительно установленная массовая концентрация стрептомицина в данных пробах без добавки должна быть менее предела измерения данной МВИ. Рекомендуется вносить добавку стрептомицина в образцы для контроля на уровне массовых концентраций в рабочих пробах.

14.5.1 Расчет параметров, ведение и оформление данных, интерпретация КК размахов для контроля стабильности СКО повторяемости

Рассчитываются значения центральной линии, границ регулирования и предупреждающих границ по формулам

- Центральная линия

$$d_2 \cdot \sigma_r = 1{,}128 \cdot \sigma_r, \tag{16}$$

где σ_r – относительное СКО повторяемости, %, приведенное в таблице 1.

- Предупреждающие границы

$$UCL = D_2^1 \cdot \sigma_r = 2{,}834 \cdot \sigma_r \tag{17}$$

- Границы регулирования

$$UCL = D_2 \cdot \sigma_r = 3{,}686 \cdot \sigma_r \tag{18}$$

Графическое построение КК состоит в проведении на выбранной шкале центральной линии и контрольных границ.

Ведение КК предусматривает набор данных X_1, X_2 при выполнении испытаний ОК в условиях повторяемости в полном соответствии с методикой, расчета фактических относительных значений размаха W по формуле (19), оформлении Листа данных КК и нанесения данных на КК.

$$W = \frac{200 \cdot |X_1 - X_2|}{X_1 + X_2}, \tag{19}$$

где X_1, X_2 – значение результатов измерений в условиях повторяемости.

Интерпретация данных КК осуществляется в соответствии с [5], п. 7.

Оценку СКО повторяемости S_r за контролируемый период вычисляют по формулам (19), (20)

$$S_r = \frac{\sum_{i=1}^{N} W_i / N}{d_2}, \tag{20}$$

КОПИЯ ВЕРНА

где N – общее число измерений (точек) на КК, для получения значений центральной линии и границ необходимо, чтобы $N = 15..20$;
d_2 – коэффициент, d_2=1,128.

14.5.2 Расчет параметров, ведение и оформление данных, интерпретация Recovery-карт для контроля стабильности правильности

Рассчитываются значения центральной линии, границ регулирования и предупреждающих границ по формулам

- Центральная линия

$$\overline{\mathrm{Re}c} = \frac{\sum_{i=1}^{N} \mathrm{Re}c_i}{N}, \qquad (21)$$

где N – количество измерений для расчета значений центральной линии и границ КК;

$\mathrm{Re}c_i$ – значение извлечения (Recovery), %, рассчитываемое по результатам i–го измерения пробы с добавкой стрептомицина, по формуле

$$\mathrm{Re}c_i = \frac{X_i}{X_{\text{exp}}} \cdot 100, \qquad (22)$$

где X_i – массовая концентрация стрептомицина в пробе с добавкой, полученное для i–го измерения, мкг/кг;

X_{exp} – рассчитанное значение массовой концентрации стрептомицина в пробе с добавкой, мкг/кг.

- Предупреждающие границы

$$UCL = \overline{\mathrm{Re}c} + 2 \cdot S_{REC} \qquad LCL = \overline{\mathrm{Re}c} - 2 \cdot S_{REC}, \qquad (23)$$

- Границы регулирования

$$UCL = \overline{\mathrm{Re}c} + 3 \cdot S_{REC} \qquad LCL = \overline{\mathrm{Re}c} - 3 \cdot S_{REC} \qquad (24)$$

где S_{REC} – стандартное отклонение извлечения, %, рассчитываемое по формуле

$$S_{REC} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} \left(\overline{\mathrm{Re}c} - \mathrm{Re}c_i\right)^2}{N-1}} \qquad (25)$$

Графическое построение КК состоит в проведении на выбранной шкале *центральной линии и контрольных границ.*

Ведение КК предусматривает набор данных единичных измерений X_i при выполнении испытаний ОК в соответствии с МВИ, расчета фактических значений коэффициента извлечения $\mathrm{Re}c_i$ по формуле (22), оформлении Листа данных КК и нанесения данных на КК.

Интерпретация данных КК осуществляется в соответствии с [5], п. 7.



15 Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие документы:

ГОСТ 8.010–99	Государственная система обеспечения единства измерений. Методика выполнения измерений. Основные положения
ГОСТ 12.1.004–91	Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования
ГОСТ 12.2.003–91	Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности
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 4172-76	Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный, 12-водный. Технические условия
ГОСТ 4174-77	Цинк сернокислый семиводный. Технические условия
ГОСТ 4207-75	Реактивы. Калий железистосинеродистый 3-водный. Технические условия
ГОСТ 4233-77	Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия
ГОСТ 4328-77	Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия
ГОСТ 6709–72	Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 6995-77	Реактивы. Метанол-яд. Технические условия
ГОСТ 12026-76	Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
ГОСТ 24104–2001	Весы лабораторные. Общие технические требования
ГОСТ 25336-82	Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 28498–90	Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний
ГОСТ 29169-91	Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой
ГОСТ 29227-91	Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования
ГОСТ 30364.0-97	Продукты яичные. Методы отбора проб и органолептического анализа
СТБ 1036–97	Продукты пищевые и продовольственное сырье. Методы отбора проб для определения показателей безопасности.
СТБ ИСО 5725-2-2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2 Основной метод измерения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений
СТБ ИСО 5725-4-2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4 Основные методы определения правильности стандартного метода измерений

Библиография

[1]	VAM Project 3.2.1 Development and Harmonization of Measurement Uncertainty Principles Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data, V.J. Barwick and S.L.R. Ellison, LGC/VAM/1998/088
[2]	ISO 21748:2010 Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценивании неопределенности измерения
[3]	ТУ BY 100185129.148-2015 Тест система для определения стрептомицина методом иммуноферментного анализа ПРОДОСКРИН®Стрептомицин
[4]	ТУ 6-09-3375-78 н-Гексан
[5]	ГОСТ Р 50779.42-99 (ИСО 8258-91) Статистические методы. Контрольные карты Шухарта

КОПИЯ ВЕРНА

gost.e-ecolog.ru