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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
34164—
2017**

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фурацилина

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 августа 2017 г. № 102-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Россия	RU	Росстандарт
Киргизия	KG	Кыргызстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 сентября 2017 г. № 1096-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34164—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2018 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2018 г.

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2017, 2018

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины, определения и сокращения . . . 2
4 Сущность метода . . . 2
5 Метрологические характеристики . . . 3
6 Требования безопасности и условия выполнения измерений . . . 3
7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы . . . 3
8 Подготовка к выполнению измерений . . . 5
9 Проведение ИФА . . . 7
10 Обработка результатов измерения . . . 8
11 Контроль точности результатов измерения . . . 9
12 Контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости с применением карт Шухарта . . . 9
Приложение А (обязательное) Комплектация тест-системы «Фурацилин — ИФА» . . . 10
Приложение Б (рекомендуемое) Схема заполнения лунок планшета . . . 11

МКС 67.050,
67.100,
67.120.10,
67.120.20,
67.120.30,
67.180.10

Поправка к ГОСТ 34164—2017 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фурацилина (Издание, ноябрь 2018 г.)

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 7.1, первое перечисление	максимальной нагрузкой не более 150 г и пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,05 г;	пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,01 г;

(ИУС № 1 2020 г.)

МКС 67.050
67.100
67.120.20
67.120.30
67.180.10

Поправка к ГОСТ 34164—2017 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фурацилина

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 4 2020 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фурацилина

Food products, food raw materials.
Immunoenzymatic method for determination of furacilina metabolite

Дата введения — 2018—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо, мясо птицы, яйца и продукты их переработки, молоко, рыбу, мед и устанавливает иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фурацилина (семикарбазида) в диапазоне измерений от 0,5 до 62,5 мкг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты*

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

ГОСТ 334—73 Бумага масштабно-координатная. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2652—78 Калия бихромат технический. Технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-6—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике**

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7269—2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

Издание официальное

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

ГОСТ 31339—2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 31467—2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ 31654—2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия

ГОСТ 31720—2012 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы отбора проб и органолептического анализа

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **тест-система:** Набор (комплект) специально подобранных реагентов (реактивов) и составных частей, предназначенный для определения одного или нескольких конкретных веществ.

3.1.2 **вспомогательный раствор:** Раствор, приготовляемый заблаговременно и необходимый для приготовления других типов растворов.

3.1.3 **рабочий раствор:** Раствор одного или нескольких реактивов, приготовляемый непосредственно перед использованием и необходимый для выполнения процедуры анализа.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

СЕМ — семикарбазид (метаболит фурацилина);

АГ — антиген;

АТ — антитела;

ИФА — иммуноферментный анализ;

ОП — оптическая плотность;

ТМБ — 3,3′,5,5′-тетраметилбензидин;

ФК — ферментный конъюгат.

4 Сущность метода

4.1 Используемый метод основан на измерении массовой концентрации СЕМ в растворах экстрактов анализируемых проб с помощью прямого твердофазного конкурентного ИФА.

4.2 Прямой твердофазный конкурентный ИФА основан на способности маркерного метаболита СЕМ и ФК (конъюгата маркерного метаболита СЕМ с пероксидазой хрена) конкурентно взаимодействовать со специфичными АТ, нанесенными на поверхность лунок планшета.

4.3 Связавшийся с АТ СЕМ, меченный пероксидазой хрена, выявляют путем измерения интенсивности окрашивания продукта реакции окисления ТМБ перекисью водорода.

Аналитический сигнал (регистрируемое значение ОП), характеризующий степень взаимодействия АТ с АГ, обратно пропорционален массовой концентрации СЕМ в растворе. Расчет массовой концентрации СЕМ в растворах экстрактов анализируемых проб проводится путем построения градуировочной зависимости оптической плотности раствора от массовой концентрации СЕМ.

5 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений массовой концентрации (содержания) СЕМ с расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений при коэффициенте охвата $k = 2$ и доверительной вероятности $P = 0,95$ и показателями точности, указанными в таблице 1.

Таблица 1 — Показатели точности и прецизионности метода

Наименование продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U, %, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, % (при $P = 0,95$, $k = 2$)	Предел воспроизводимости R, % (при $P = 0,95$, $k = 2$)
Мясо Мясо птицы Яйца и продукты их переработки	От 0,5 до 2,0 включ.	70	21	35	58	96
Рыба Молоко Мед	Св. 2,0 до 62,5 включ.	54	15	27	42	75

6 Требования безопасности и условия выполнения измерений

6.1 При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

6.2 Помещения, в которых проводятся анализ и подготовка проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией и должны соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и электробезопасности по ГОСТ 12.1.019.

6.3 Применяемые при определении остаточного содержания метаболита фурацилина средства измерений должны иметь свидетельства о поверке, вспомогательное оборудование — свидетельства об аттестации, оформленные в соответствии с требованиями национального законодательства в области обеспечения единства измерений, действующего на территории государства, принявшего стандарт.

6.4 К выполнению измерений допускаются лица, владеющие техникой ИФА и изучившие инструкции по применению тест-систем и инструкции по эксплуатации используемых приборов.

6.5 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . от 15 до 30 °С;
- относительная влажность воздуха. . . . . от 20 до 80 %.

7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы

7.1 При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и посуду:

- весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с максимальной нагрузкой не более 150 г и пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,05 г;
- весы утвержденного типа с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,2 мг;
- компьютер с установленным программным обеспечением для управления и обработки результатов измерений;
- pH-метр любой марки, позволяющий проводить измерения в диапазоне от 3 до 10 ед. pH с погрешностью ± 0,05 ед. pH;

- фотометр для микропланшетов вертикального типа фотометрирования с диапазоном измерений ОП от 0 до 3 е. о. п. в комплекте с интерференционными светофильтрами для длин волн 450 нм;
- баню водяную с терморегулятором, позволяющим поддерживать температуру от 40 до 100 °С, с отклонением от заданной температуры ± 5 °С;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- микроцентрифугу любого типа с частотой вращения 7000 об/мин с адаптером для пробирок вместимостью 1,5 $см^3$;
- морозильную камеру любого типа, обеспечивающую среднюю температуру не выше минус 20 °С;
- испаритель роторный любого типа или устройство для испарения экстрактов, с термостатируемым нагревательным модулем, поддерживающий температуру от 30 до 60 °С, с системой отдувки растворителей инертным газом;
- генератор азота, объемная доля азота не менее 95 %, производительность 200 $дм^3$/мин;
- термостат любого типа, поддерживающий температуру (37 ± 1) °С;
- холодильник бытовой с рабочим диапазоном температур от 2 до 8 °С;
- центрифугу с бакет-ротором и адаптером для пробирок вместимостью 30 $см^3$, частотой вращения не менее 4000 об/мин;
- шейкер вертикального вращения 360° в одной плоскости с адаптером для пробирок и диапазоном скорости от 20 до 100 об/мин;
- шейкер вортексного типа, с вставкой для одной пробирки и диапазоном скорости от 150 до 2500 об/мин;
- шкаф сушильный любого типа, обеспечивающий поддержание температуры не менее (95 ± 5) °С;
- бумагу индикаторную универсальную, pH 0—12 ед. pH;
- бумагу масштабно-координатную по ГОСТ 334, марки Н-1;
- бумагу фильтровальную лабораторную по ГОСТ 12026;
- колбы мерные 1—100(250,1000)—2 по ГОСТ 1770;
- колбы конические Кн-1—25(50)—24/29 ТС по ГОСТ 25336;
- дозаторы пипеточные многоканальные переменной вместимости 0,03—0,3 $см^3$, с допустимой относительной погрешностью дозирования по метанолу и ацетонитрилу не более ± 1,0 %;
- дозаторы пипеточные одноканальные переменной вместимости 0,005—0,05; 0,1—1,0; 0,5—5,0 $см^3$ с допустимой относительной погрешностью дозирования по кметанолу и ацетонитрилу не более ± 1 %;
- пробирки стеклянные типа П-1—10—0,1 ХС по ГОСТ 1770;
- пробирки стеклянные вместимостью 30 $см^3$ с завинчивающимися крышками;
- пробирки микроцентрифужные вместимостью 1,5 $см^3$;
- цилиндры 1—10(50,100,250,500)—1 по ГОСТ 1770.

7.2 При выполнении измерений применяют следующие реактивы:
- азот газообразный 2-го сорта по ГОСТ 9293, ос. ч.;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- калия бихромат по ГОСТ 2652;
- кислоту серную по ГОСТ 4204, концентрированную;
- кислоту соляную по ГОСТ 3118, концентрированную, плотностью 1,19 г/$см^3$, х. ч.;
- метанол с содержанием основного вещества не менее 99 %, х. ч.;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.;
- натрия фосфат додекагидрат с содержанием основного вещества не менее 98 %;
- н-гексан с содержанием основного вещества не менее 98 %, х. ч.;
- тест-систему для прямого твердофазного конкурентного ИФА в комплектации (см. приложение А), которая предназначена для определения СЕМ;
- этилацетат с содержанием основного вещества не менее 98 %, х. ч.

7.3 Допускается использование других средств измерений с метрологическими характеристиками и вспомогательного оборудования с техническими характеристиками, а также реактивов и материалов по качеству и чистоте не хуже указанных в настоящем стандарте.

8 Подготовка к выполнению измерений

8.1 Подготовка оборудования

8.1.1 При подготовке к проведению измерений лабораторную стеклянную посуду моют хромовой смесью, многократно промывают водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

8.1.2 Подготовку и проверку фотометра и pH-метра проводят в соответствии с руководством по эксплуатации приборов.

8.2 Приготовление растворов

8.2.1 Приготовление раствора фосфата натрия молярной концентрацией 0,3 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 11,4 г натрия фосфата додекагидрата, растворяют в 500 см^3 дистиллированной воды и доводят объем раствора до метки водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 до 8 °С — не более 1 мес.

8.2.2 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрацией 1 моль/дм^3

В мерной колбе вместимостью 1000 см^3 растворяют в 500 см^3 дистиллированной воды 85 см^3 концентрированной соляной кислоты, доводят объем раствора водой до метки, закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Не рекомендуется вливать воду в концентрированную кислоту!

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 1 мес.

8.2.3 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,4 г гидроокиси натрия, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, перемешивают и доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 1 мес.

8.2.4 Приготовление хромовой смеси

В мерной колбе вместимостью 250 см^3 растворяют 5,0 г бихромата калия в 50 см^3 дистиллированной воды, затем добавляют 100 см^3 концентрированной серной кислоты.

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 1 мес. Если раствор приобретает зеленый оттенок, его готовят заново.

8.2.5 Приготовление рабочих градуировочных растворов СЕМ $К_1$—$К_5$

8.2.5.1 Приготовление исходного раствора $К_0$ массовой концентрацией 625 мкг/дм^3

В пробирку вместимостью 1,5 см^3 вносят 0,9 см^3 дистиллированной воды, добавляют 0,1 см^3 реактива № 1 (см. приложение А), перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 30 с.

8.2.5.2 Приготовление рабочих градуировочных растворов СЕМ $К_1$—$К_5$

Рабочие градуировочные растворы $К_1$—$К_5$ готовят в стеклянных пробирках вместимостью 30 см^3 согласно таблице 2.

Таблица 2 — Приготовление рабочих градуировочных растворов СЕМ $К_1$—$К_5$

Обозначение и массовая концентрация приготовляемого раствора СЕМ	Вносимый объем, см^3				
	дистиллированной воды	исходного раствора $К_0$	рабочего раствора $К_5$	рабочего раствора $К_4$	рабочего раствора $К_3$
$К_5$ (62,5 мкг/дм^3)	0,9	0,1	—	—	—
$К_4$ (12,5 мкг/дм^3)	0,8	—	0,2	—	—
$К_3$ (2,5 мкг/дм^3)	0,8	—	—	0,2	—
$К_2$ (0,5 мкг/дм^3)	0,8	—	—	—	0,2
$К_1$ (0 мкг/дм^3)	1,0	—	—	—	—

Пробирки закрывают крышками, перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 20 с и проводят дальнейшую обработку растворов согласно 8.4.4.

Используют свежеприготовленные растворы.

8.2.6 Приготовление рабочего раствора буфера для промывки

В колбу вместимостью 50 $см^3$ вносят 28 $см^3$ дистиллированной воды, добавляют 1,47 $см^3$ реактива № 3 (см. приложение А), перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре от 2 до 8 °С — не более 1 мес.

8.2.7 Приготовление рабочего раствора реакционного буфера

В стеклянную пробирку вместимостью 30 $см^3$ вносят 10 $см^3$ реактива № 4 (см. приложение А) и 0,0065 $см^3$ реактива № 7 (см. приложение А), перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 30 с.

Срок хранения раствора при температуре от 2 до 8 °С — не более 1 сут.

8.2.8 Приготовление 20%-ного раствора метанола в рабочем растворе реакционного буфера

В колбу вместимостью 25 $см^3$ вносят 8 $см^3$ рабочего раствора реакционного буфера (см. 8.2.7), добавляют 2 $см^3$ метанола, перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре от 2 до 8 °С — не более 1 сут.

8.2.9 Приготовление рабочего раствора ФК

В стеклянную пробирку вместимостью 10 $см^3$ вносят 2,25 $см^3$ реактива № 4 (см. приложение А) и 0,25 $см^3$ реактива № 2 (см. приложение А), перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 10 с.

Используют свежеприготовленный раствор.

8.3 Отбор проб

8.3.1 Отбор проб мяса — по ГОСТ 7269.

8.3.2 Отбор проб мяса птицы — по ГОСТ 31467.

8.3.3 Отбор проб молока — по ГОСТ 26809.1.

8.3.4 Отбор проб яиц — по ГОСТ 31654, пищевых яичных продуктов — по ГОСТ 31720.

8.3.5 Отбор проб рыбы — по ГОСТ 31339.

8.3.6 Отбор проб меда — по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

8.3.7 Пробы, отобранные по 8.3.1, 8.3.2, 8.3.5, при отсутствии возможности анализа в день отбора замораживают и хранят при температуре не выше минус 20 °С до проведения анализа, но не более 2 мес.

8.4 Подготовка проб

8.4.1 Мышечную ткань предварительно очищают от жира, грубой соединительной ткани, рыбу — от крупных костей, кожи и измельчают на гомогенизаторе.

8.4.2 Яйца отделяют от скорлупы и перемешивают на гомогенизаторе. Пищевые яичные продукты тщательно перемешивают.

8.4.3 При подготовке молока проводят его обезжиривание с помощью центрифугирования в течение 15 мин при 4000 об/мин. Верхний слой удаляют.

При подготовке сухого молока навеску 1 г перемешивают с 10 $см^3$ дистиллированной воды до полного растворения. Далее проводят обезжиривание, как описано выше.

8.4.4 1,00 г гомогенизированной пробы помещают в стеклянные пробирки вместимостью 30 $см^3$. Затем обрабатывают анализируемые пробы и градуировочные растворы, приготовленные по 8.2.5.2, как указано на рисунке 1. Для каждого образца проводят анализ двух параллельных проб.

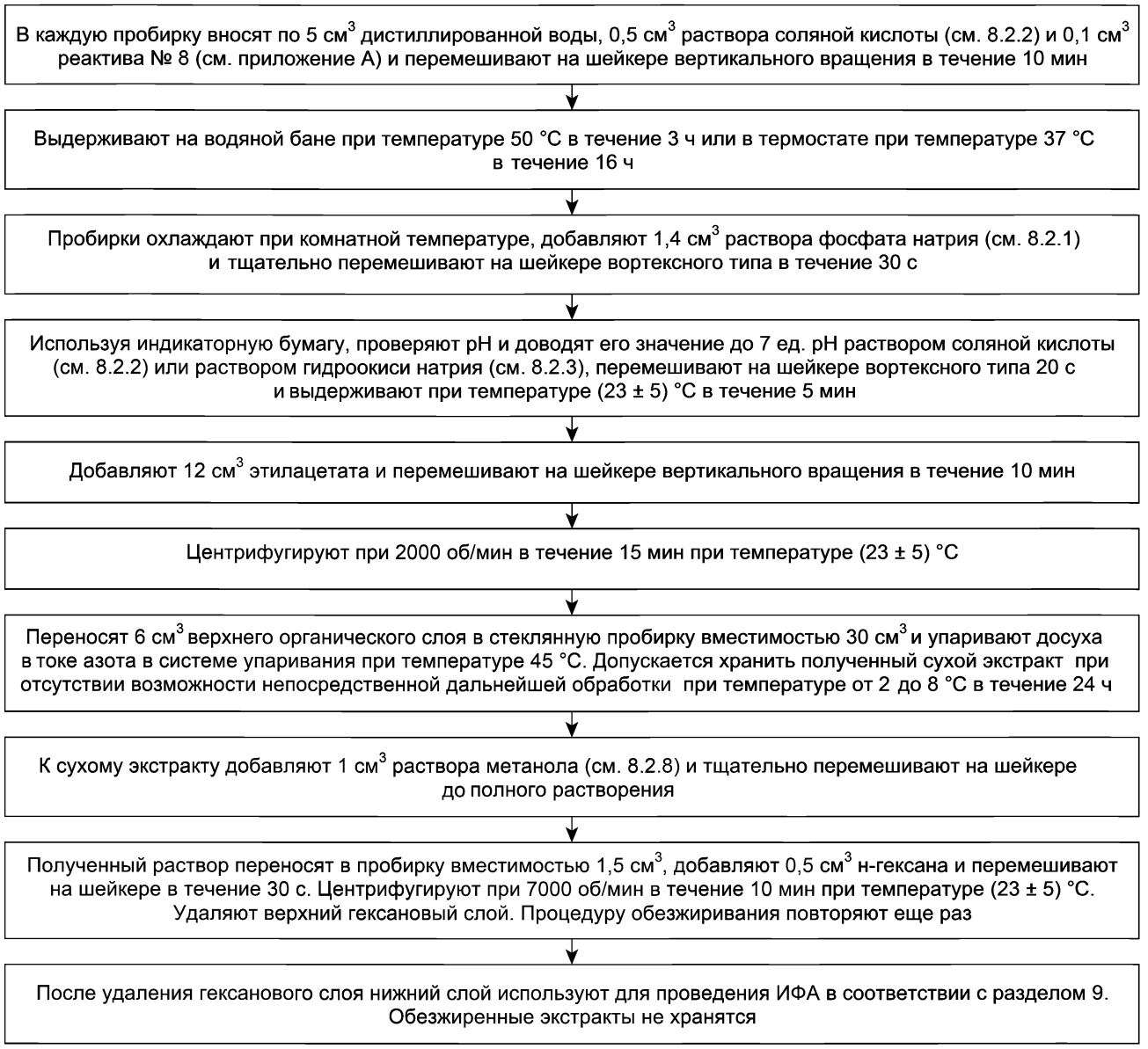


Рисунок 1 — Обработка анализируемых проб и градуировочных растворов

9 Проведение ИФА

9.1 Общие положения

9.1.1 При проведении анализа следует использовать реагенты и компоненты, входящие в один и тот же набор (тест-систему). Разбавление или замена реагентов из набора (тест-системы) другой серии не допускается.

9.1.2 Наборы (тест-системы) следует хранить при температуре от 2 до 8 °С в пределах срока хранения.

9.1.3 Окрашивание раствора субстрата (см. приложение А) является признаком его порчи и делает невозможным его применение для анализа.

9.2 Подготовка тест-системы к проведению анализа

9.2.1 Перед использованием тест-систему вынимают из холодильника и выдерживают при температуре (23 ± 5) °С не менее 30 мин, после чего аккуратно встряхивают каждый флакон. Реактив № 3 (см. приложение А) необходимо прогреть в термостате при температуре 37 °С до полного растворения кристаллов солей и тщательно перемешать.

9.2.2 После использования реагенты тест-системы сразу убирают в холодильник.

9.2.3 На всех стадиях необходимо избегать воздействия прямого солнечного света.

9.2.4 Для каждого реактива и раствора используют отдельные съемные наконечники пипеточных дозаторов переменной вместимости. Внесение растворов в лунки проводят осторожно, не касаясь наконечниками их дна и стенок.

9.2.5 Каждый раствор экстрактов анализируемых проб (см. 8.4) и экстрактов градуировочных растворов (см. 8.2.5.2) анализируют в двух повторностях.

Примечание — Далее приведены расходы реактивов на два стрипа*, что достаточно для анализа трех проб. Для другого числа проб количество используемых стрипов и смешиваемых объемов реагентов изменяют в соответствии с количеством анализируемых проб.

9.3 Проведение анализа

9.3.1 Из планшета извлекают необходимое число стрипов. Неиспользованные стрипы хранят в закрытом фольгированном полиэтиленовом пакете с зип-локом** при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности тест-системы.

9.3.2 В лунки планшета вносят по 0,05 $см^3$ экстрактов рабочих градуировочных растворов $К_1$—$К_5$ (см. 8.4.4) и растворов анализируемых проб.

Каждый раствор вносят в двойной повторности (лунки-дубли).

Внесение растворов проводят согласно приложению Б.

Далее в каждую лунку вносят по 0,05 $см^3$ рабочего раствора ФК (см. 8.2.9). Стрипы заклеивают пленкой или закрывают крышкой, инкубируют в холодильнике при температуре от 2 до 8 °С в течение 1 ч, после чего содержимое лунок сливают.

9.3.3 В лунки планшета вносят по 0,2 $см^3$ раствора буфера для промывки (см. 8.2.6), оставляют на 1—2 мин и сливают. Процедуру промывки повторяют еще три раза. Остатки жидкости интенсивно стряхивают на чистую фильтровальную бумагу.

9.3.4 В лунки планшета вносят по 0,1 $см^3$ раствора № 5 (см. приложение А) и инкубируют в термостате при температуре 37 °С в течение 10 мин.

9.3.5 Добавляют по 0,1 $см^3$ раствора № 6 (см. приложение А), аккуратно перемешивают легким постукиванием по ребру планшета. Помещают планшет в вертикальный фотометр и измеряют значения ОП при длине волны 450 нм. Измерение необходимо провести в течение 30 мин после добавления реагента № 6. Значения допускаемого относительного расхождения между двумя измерениями ОП экстрактов рабочих градуировочных растворов не должно превышать 10 %.

10 Обработка результатов измерения

10.1 По показателям ОП в лунках-дублях находят среднеарифметические значения. Разность значений ОП для них в процентах от среднего не должна превышать 10.

Связывание АТ или относительное поглощение П, %, рассчитывают по формуле

$$П = \frac{ОП_п}{ОП_к} \cdot 100, \quad (1)$$

где $ОП_к$ — среднее значение ОП, измеренной в лунках с нулевым стандартом (экстрактом градуировочного раствора $К_1$) (см. 8.2.5);

$ОП_п$ — среднее значение ОП, измеренной в лунках с экстрактами градуировочных растворов $К_2$—$К_5$ (см. 8.2.5) и с растворами экстрактов анализируемых проб.

По значениям процентов связывания, вычисленным для градуировочных растворов с соответствующими известными значениями массовой концентрации СЕМ, мкг/$дм^3$, строят градуировочный график в полулогарифмической системе координат.

10.2 Для построения градуировочного графика используют масштабно-координатную бумагу. На ось абсцисс наносят значения логарифмов концентраций СЕМ в градуировочных растворах $К_2$—$К_5$ (см. 8.2.5). По оси ординат откладывают значения процентов связывания, рассчитанные для массовых концентраций по формуле (1). Градуировочный график строят с использованием кусочно-линейной зависимости.

---

* Стрип — полоска из восьми лунок.

** Зип-лок — замок, обеспечивающий герметизацию пакета.

10.3 С помощью градуировочного графика по значению процента связывания, полученного для растворов экстрактов анализируемых проб, находят логарифмы массовой концентрации в них СЕМ. С помощью калькулятора вычисляют его обратное значение (антилогарифм), соответствующее массовой концентрации СЕМ в растворе экстракта.

10.4 Массовую концентрацию (содержание) СЕМ в анализируемой пробе C, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$C = c \cdot K, \quad (2)$$

где c — массовая концентрация СЕМ в рабочем растворе экстракта анализируемой пробы, определяемая по градуировочному графику, мкг/дм^3;

K — коэффициент пересчета мкг/дм^3 в мкг/кг в экстракте анализируемой пробы, учитывающий ее разведение (для сухого молока равен 10, для остальных проб — единице).

За окончательный результат принимают среднеарифметическое двух измерений, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости

$$|C_1 - C_2| \le 0{,}01 \cdot C_{ср} - r_{отн}, \quad (3)$$

где C_1 и C_2 — результаты определений массовой концентрации СЕМ, полученные в условиях повторяемости, мкг/кг;

$C_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух определений массовой концентрации СЕМ в анализируемой пробе, мкг/кг;

$r_{отн}$ — предел повторяемости, %, приведенный в таблице 1.

Результаты измерений массовой концентрации СЕМ, мкг/кг, округляют до первого знака после запятой.

10.5 Допускается использование программного обеспечения, позволяющего определять массовую концентрацию (содержание) СЕМ в анализируемой пробе по средним значениям ОП, измеренным в лунках с экстрактами градуировочных растворов и анализируемых проб.

С помощью компьютерной системы обработки данных строят градуировочную зависимость ОП раствора от массовой концентрации СЕМ и аппроксимируют линейной функцией $y = ax + b$.

Градуировочная зависимость считается приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение коэффициента корреляции $r^2 \ge 0{,}98$.

За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{2 \cdot |C_1 - C_2| \cdot 100}{(C_1 + C_2)} \le r, \quad (4)$$

где C_1, C_2 — результаты параллельных определений массовой концентрации СЕМ, мкг/дм^3;

r — значение предела повторяемости для разных диапазонов измерения (см. таблицу 1).

Результат определения массовой концентрации (содержания) СЕМ в анализируемой пробе представляют в виде

$$C \pm 0{,}01 \cdot U \cdot C, \quad (5)$$

где C — массовая концентрация (содержание) СЕМ в анализируемой пробе, мкг/кг;

U — значение относительной расширенной неопределенности при коэффициенте охвата $k = 2$, % (см. таблицу 1).

11 Контроль точности результатов измерения

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) и воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6 (раздел 5).

12 Контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости с применением карт Шухарта

Контроль стабильности результатов измерений при реализации метода в лаборатории осуществляют по ГОСТ ИСО 5725-6, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости рутинного анализа (см. раздел 6).

Приложение А
(обязательное)

Комплектация тест-системы «Фурацилин — ИФА»*

В комплектацию тест-системы входят:

- планшет 96-луночный полистироловый стрипованный для иммунологических исследований с иммобилизованными антителами;
- пакет полиэтиленовый фольгированный с зип-локом;
- пленка полиэтиленовая самоклеящаяся для заклеивания планшетов.

Растворы:

№ 1 — СЕМ — раствор массовой концентрацией СЕМ 6,25 мкг/см^3;

№ 2 — ФК — конъюгат СЕМ с пероксидазой хрена;

№ 3 — раствор фосфатного буфера для промывки (20-кратный концентрат), pH 7,0—7,4 ед. pH;

№ 4 — реакционный буферный раствор с добавлением бычьего сывороточного альбумина, pH 7,0—7,4 ед. pH, стерильный;

№ 5 — раствор субстрата на основе ТМБ с добавлением перекиси водорода;

№ 6 — стоп-реагент — раствор серной кислоты молярной концентрацией 0,5 моль/дм^3;

№ 7 — раствор натрия ацетата молярной концентрацией 3,0 моль/дм^3;

№ 8 — раствор 2-нитробензальдегида в ДМСО молярной концентрацией 0,01 моль/дм^3.

---

* Данный комплект реагентов является рекомендуемым и приведен для удобства пользователей настоящего стандарта.

Приложение Б
(рекомендуемое)

Схема заполнения лунок планшета

Внесение реагентов следует проводить согласно следующей схеме:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	$К_1$	$К_1$	№ 4	№ 4	№ 12	№ 12	№ 20	№ 20	№ 28	№ 28	№ 36	№ 36
B	$К_2$	$К_2$	№ 5	№ 5	№ 13	№ 13	№ 21	№ 21	№ 29	№ 29	№ 37	№ 37
C	$К_3$	$К_3$	№ 6	№ 6	№ 14	№ 14	№ 22	№ 22	№ 30	№ 30	№ 38	№ 38
D	$К_4$	$К_4$	№ 7	№ 7	№ 15	№ 15	№ 23	№ 23	№ 31	№ 31	№ 39	№ 39
E	$К_5$	$К_5$	№ 8	№ 8	№ 16	№ 16	№ 24	№ 24	№ 32	№ 32	№ 40	№ 40
F	№ 1	№ 1	№ 9	№ 9	№ 17	№ 17	№ 25	№ 25	№ 33	№ 33	№ 41	№ 41
G	№ 2	№ 2	№ 10	№ 10	№ 18	№ 18	№ 26	№ 26	№ 34	№ 34	№ 42	№ 42
H	№ 3	№ 3	№ 11	№ 11	№ 19	№ 19	№ 27	№ 27	№ 35	№ 35	№ 43	№ 43

УДК 664:637.07:614.3:006.354

МКС 67.050
67.100
67.120.10
67.120.20
67.120.30
67.180.10

Ключевые слова: продукты пищевые, продовольственное сырье, метаболит фурацилина, остаточное содержание, иммуноферментный метод, прецизионность метода, тест-система, антиген, антитела, оптическая плотность, ферментный конъюгат

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 26.11.2018. Подписано в печать 30.11.2018. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,69.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

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

gost.e-ecolog.ru