

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Альгимед»

О.А. Шевченко

«21» ноября 2025 г.



СЫРЬЕ И ПРОДУКЦИЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

**Методика измерения массовой доли антибиотиков группы пенициллинов в
пищевой продукции методом ИФА с использованием набора реагентов
«ALMUNO Penicillin»**

**МИ МР-112-2025
(АМИ.МН 0202-2025)**

Москва

2025

ПРЕДИСЛОВИЕ

1 РАЗРАБОТАНА Обществом с ограниченной ответственностью «Альгимед» (ООО «Альгимед»)

2 АТТЕСТОВАНА Федеральное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский центр прикладной метрологии – Ростест» (ФБУ «НИЦ ПМ – Ростест»)

3 УТВЕРЖДЕНА «21» ноября 2025 г. приказом Генерального директора ООО «Альгимед» № 29-ОД от «21» ноября 2025 г.

СВИДЕТЕЛЬСТВО ОБ АТТЕСТАЦИИ от «25» ноября 2025 г. № 1831/03-RA.RU.311703-2025 ФБУ «НИЦ ПМ – Ростест»

СВЕДЕНИЯ О РЕГИСТРАЦИИ ФР.1.31.2025.52934

Содержание

1	Вводная часть	7
1.1	Назначение и область применения методики измерений.....	7
2	Нормативные ссылки	8
3	Требования к показателям точности измерений, показатели неопределенности 10	
4	Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам	15
4.1	Средства измерений.....	15
4.2	Вспомогательные устройства	17
4.3	Программное обеспечение.....	18
4.4	Материалы, реактивы	18
5	Метод измерений	19
6	Требования безопасности и требования к квалификации операторов.....	19
6.1	Общие требования безопасности	19
6.2	Требования к квалификации операторов	20
7	Условия выполнения измерений.....	20
7.1	Условия инкубации иммуносорбента в помещении.....	20
7.2	Условия хранения набора реагентов	21
8	Подготовка к выполнению измерений	21
8.1	Отбор образцов	21
8.2	Подготовка лабораторной посуды	21
8.3	Приготовление растворов	22
8.3.1	Приготовление экстракционного буфера.....	22
8.3.2	Приготовление смеси метанол-экстракционный буфер с объемным отношением 1:1	23
8.3.3	Приготовление смеси метанол-экстракционный буфер с объемным отношением 7:3	23
8.3.4	Приготовление раствора пенициллина G с массовой концентрацией 1000 нг/см ³	23
8.3.5	Приготовление градуировочных растворов пенициллина.....	23
8.3.6	Приготовление промывочного раствора	24
8.3.7	Приготовление раствора ПСБ	25

8.4 Подготовка проб	25
8.4.1 Подготовка проб молока (сырого, пастеризованного, стерилизованного, ультрапастеризованного), сливок, напитков и коктейлей на молочной основе (в том числе йогуртных), молочных смесей, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, восстановленного сухого молока	25
8.4.2 Подготовка проб десертов на молочной основе, мороженого на молочной основе, каш молочных готовых к употреблению, каш сухих молочных восстановленных, творога и продуктов на его основе (в том числе творожных сырков, зерненного творога, творожной массы, творожной пасты, кремов творожных и подобных продуктов с наполнителями и без), творожного сыра, кисломолочных продуктов (кефира, ряженки, айрана, йогурта, простокваши, варенца, ацидофилина и подобных продуктов с наполнителями и без), сметаны, пахты, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, напитков на основе молочной сыворотки, восстановленного пермеата.	27
8.4.3 Подготовка проб масла сливочного, молочного жира, сливочно-растительного спреда, сгущенного молока.....	28
8.4.4 Подготовка проб сыра, сырных продуктов и сырных паст, изделий кулинарных сырных	28
8.4.5 Подготовка проб мяса, готовых к употреблению мясных продуктов, полуфабрикатов мясных и мясорастительных, консерв мясных и мясорастительных, в том числе для детского питания, жиров животных, сала, в том числе шпика, и пищевой продукции, их содержащих, мяса птицы, готовых к употреблению продуктов из мяса птицы, полуфабрикатов, консерв из мяса птицы, в том числе для детского питания, рыбы, переработанной и непереработанной пищевой рыбной продукции животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия и полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветок.....	29
8.4.6 Подготовка проб субпродуктов (в том числе птичьих) и продуктов их переработки	30
8.4.7 Подготовка проб яиц, яйцепродуктов и продуктов переработки яиц (в том числе яичного порошка, яичной массы, меланжа).....	30
8.4.8 Подготовка проб меда, крем-меда	31
8.5 Подготовка набора реагентов	32
8.5.1 Предварительная подготовка и правила обращения с наборами реагентов...	32
8.5.2 Подготовка иммуносорбента.....	32
9 Выполнение измерений.....	32
9.1 Общие требования	32

9.2 Требования к выполнению ИФА при использовании более шести стрипов одновременно	33
9.3 Дозирование компонентов набора реагентов и последовательность операций при выполнении анализа	33
9.3.1 Внесение градуировочных растворов и растворов проб	33
9.3.2 Добавление раствора ПСБ	33
9.3.3 Инкубация иммуносорбента	33
9.3.4 Промывка иммуносорбента	34
9.3.5 Добавление конъюгата	34
9.3.6 Инкубация иммуносорбента после добавления конъюгата	34
9.3.7 Промывка иммуносорбента	34
9.3.8 Добавление ТМВ-субстрата	34
9.3.9 Инкубация иммуносорбента	35
9.3.10 Завершение реакции окрашивания	35
9.3.11 Измерение оптической плотности	35
10 Обработка результатов измерения	35
10.1 Расчет массовой доли пенициллина в пробах	35
10.2 Расчет и интерпретация окончательного результата измерений	37
10.3 Критерии правильности выполнения измерений	37
10.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости	37
11 Оформление результатов измерений	38
11.1 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности	38
11.2 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы пенициллинов с использованием нижней границы диапазона измерений	38
11.3 Форма представления результатов измерений в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы пенициллинов с использованием верхней границы диапазона измерений	39
12 Контроль точности результатов измерений	39
12.1 Периодичность контроля точности результатов измерений	39
12.2 Контроль результатов, полученных в условиях повторяемости	39

12.3 Проверка приемлемости результатов, полученных в условиях промежуточной прецизионности	39
12.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.....	40
12.5 Контроль правильности	43
12.5.1 Образцы для контроля правильности	43
12.5.2 Проведение контрольной процедуры	44
12.6 Контроль стабильности результатов измерений с применением контрольных карт Шухарта (КК).....	44
12.6.1 Расчет параметров, ведение и оформление данных, интерпретация КК размахов для контроля стабильности СКО повторяемости	45
12.6.2 Расчет параметров, ведение и оформление данных, интерпретация Recovery-карт для контроля стабильности правильности.....	46
Приложение А__(справочное) Метрологические характеристики дозаторов пипеточных и секундомера.....	47
Приложение Б__(справочное)__Состав и перекрестная реактивность набора реагентов «ALMUNO Penicillin».....	48
Библиография	49

1 Вводная часть

1.1 Назначение и область применения методики измерений

Настоящая методика устанавливает методику измерений (далее – методика) массовой доли антибиотиков группы пенициллинов¹⁾ методом ИФА с использованием набора реагентов «ALMUNO Penicillin» (далее – набор реагентов) в следующей пищевой продукции²⁾:

- Молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, напитки, коктейли на молочной основе (в т.ч. йогуртные), молочные смеси, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, восстановленное сухое молоко;

- Десерты на молочной основе, мороженое на молочной основе, каши молочные готовые к употреблению, каши сухие молочные восстановленные, творог и продукты на его основе (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста, крема творожные и подобные продукты с наполнителями и без), творожный сыр, кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран, йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин и подобные продукты с наполнителями и без), сметана, пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, напитки на основе молочной сыворотки, восстановленный пермеат;

- Масло сливочное, молочные жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко;

- Сыр, сырные продукты и сырные пасты, изделия кулинарные сырные;

- Мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, в том числе для детского питания, жиры животные, сало, в том числе шпик, и пищевая продукция их содержащая, мясо птицы, готовые к употреблению продукты из мяса птицы, полуфабрикаты, консервы из мяса птицы, в том числе для детского питания, рыба, переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия и полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки;

¹⁾ Массовую долю антибиотиков группы пенициллинов в соответствии с настоящей методикой определяют как сумму значений массовой доли бензилпенициллина (пенициллина G), ампициллина, пенициллина V, диклоксациллина, оксациллина в пересчете на бензилпенициллин (пенициллин G) с учетом перекрестной чувствительности, специфицируемой производителем набора реагентов [5]

²⁾ Результаты измерений массовой доли антибиотиков группы пенициллинов, полученные согласно настоящей методике, для сухих продуктов переработки молока и яиц, относятся:

- в сухом молоке – к продукции, восстановленной согласно ГОСТ 30305.4;
- в сухой молочной сыворотке, пермеате – к продукции, восстановленной согласно настоящей методике измерений;
- в сухой молочной смеси для детского питания, в кашах сухих молочных – к продукции, восстановленной согласно инструкции производителя;
- в сухих яичных продуктах – к продукции, восстановленной согласно ГОСТ 30364.0.

- Яйца, яйцепродукты и продукты переработки яиц (в том числе яичный порошок, яичная масса, меланж);
- Субпродукты (в том числе птичьи) и продукты их переработки;
- Мед, крем-мед.

Настоящая методика может применяться в испытательных лабораториях любой принадлежности для испытания пищевой продукции согласно области применения с целью определения массовой доли антибиотиков группы пенициллинов в пищевой продукции. В сфере законодательной метрологии настоящая методика может применяться в следующих областях:

- Обеспечение защиты жизни и охраны здоровья человека;
- Проведение испытаний при осуществлении контроля за соответствием продукции и сырья требованиям технических нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА) содержания антибиотиков группы пенициллинов;
- Проведения лабораторных исследований.

2 Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие нормативные документы:

- СТБ 1036–97 Продукты пищевые и продовольственное сырье. Методы отбора проб для определения показателей безопасности (действующий в РФ аналогичный документ: ГОСТ 34668–2020 Продукция пищевая. Методы отбора и подготовка образцов (проб) для определения показателей безопасности)

- СТБ ISO 5725–2–2022 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений (действующий в РФ аналогичный документ ГОСТ Р ИСО 5725–2–2022)

- СТБ ISO 21748–2019 Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценивании неопределенности измерений (действующий в РФ аналогичный документ ГОСТ Р ИСО 21748–2021 Статистические методы. Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений);

- 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 OIML R 76–1–2011 Весы лабораторные. Общие технические требования;

- ГОСТ 1770–74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия;
- ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия (действующий в РФ аналогичный документ: ГОСТ Р 58144–2018 Вода дистиллированная. Технические условия);
- ГОСТ 6995–77 Метанол-яд. Технические условия;
- ГОСТ 7269–2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести;
- ГОСТ 8756.0–70 Продукты пищевые консервированные отбор проб и подготовка их к испытанию;
- 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 подготовки проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты;
- ГОСТ 26809.2–2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты;
- ГОСТ 29227–91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования;
- ГОСТ 30305.4–95 Продукты молочные сухие. Методика выполнения измерений индекса растворимости;
- ГОСТ 30364.0–97 Продукты яичные. Методы отбора проб и органолептического анализа (действующий в РФ вместо указанного нормативный документ – ГОСТ 31720–2012 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы отбора проб и органолептического анализа);
- ГОСТ 31467–2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы, методы отбора проб и подготовка их к испытаниям;
- ГОСТ 34100.3–2017 ISO/IEC Guide 98–3:2008 Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения.

Примечание – При пользовании настоящей методикой измерений целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов с помощью соответствующих правовых справочных систем в глобальной компьютерной сети Интернет или уточнить статус непосредственно у разработчика и держателя нормативного документа или его правопреемника. Если ссылочный нормативный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящей рекомендацией следует руководствоваться заменяющим (измененным)

документом. Если ссылочный нормативный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Требования к показателям точности измерений, показатели неопределенности

Диапазоны измерений массовой доли антибиотиков группы пенициллинов приведены в таблице 1.

Предел измерения для данной методики составляет:

– молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, напитки и коктейли на молочной основе (в том числе йогуртные), молочные смеси, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, восстановленное сухое молоко – **0,4 мкг/кг**;

– десерты на молочной основе, мороженое на молочной основе, каши молочные готовые к употреблению, каши сухие молочные восстановленные, творог и продукты на его основе (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста, крема творожные и подобные продукты с наполнителями и без), творожный сыр, кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран, йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин и подобные продукты с наполнителями и без), сметана, пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, напитки на основе молочной сыворотки, восстановленный пермеат, масло сливочное, молочный жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко, сыр, сырные продукты и сырные пасты, изделия кулинарные сырные, мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, в том числе для детского питания, жиры животные, сало, в том числе шпик, и пищевая продукция их содержащая, мясо птицы, готовые к употреблению продукты из мяса птицы, полуфабрикаты, консервы из мяса птицы, в том числе для детского питания, рыба, переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия из полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки, яйца, яйцепродукты и продукты переработки яиц (в том числе яичный порошок, яичная масса, меланж) – **0,8 мкг/кг**;

– субпродукты (в том числе птичьи) и продукты их переработки, мед, крем-мед – **1,6 мкг/кг**.

Настоящая методика разработана в соответствии с требованиями ГОСТ 8.010.

Настоящая методика обеспечивает измерение массовой доли антибиотиков группы пенициллина в указанных диапазонах с показателями точности, приводимыми в таблице 1.

Таблица 1 – Рабочие характеристики при измерении массовой доли антибиотиков группы пенициллинов, включая диапазоны измерений, относительные значения показателей повторяемости и промежуточной прецизионности

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительное стандартное отклонение повторяемости $\sigma_r, \%$	Относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности $\sigma_{I(TO)}, \%$
Молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, напитки и коктейли на молочной основе (в том числе йогуртные), молочные смеси, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, восстановленное сухое молоко	От 0,4 до 10,0 включ.	6,8	11,0
Десерты на молочной основе, мороженое на молочной основе, каши молочные готовые к употреблению, каши сухие молочные восстановленные	От 0,8 до 20,0 включ	6,8	11,0
Творог и продукты на его основе (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста, крема творожные и подобные продукты с наполнителями и без), творожный сыр, кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран, йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин и подобные продукты с наполнителями и без), сметана, пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, напитки на основе молочной сыворотки, восстановленный пермеат	От 0,8 до 20,0 включ	6,8	11,0
Масло сливочное, молочный жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко	От 0,8 до 20,0 включ	6,8	11,0
Сыр, сырные продукты и сырные пасты, изделия кулинарные сырные	От 0,8 до 20,0 включ	6,8	11,0
Мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, в том числе для детского питания, жиры животные, сало, в том числе шпик, и пищевая продукция их содержащая, мясо птицы, готовые к употреблению продукты из мяса птицы, полуфабрикаты, консервы из мяса птицы, в том числе для детского питания, рыба	От 0,8 до 20,0 включ	6,8	11,0

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительное стандартное отклонение повторяемости $\sigma_r, \%$	Относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности $\sigma_{I(TO)}, \%$
Переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия из полуфабрикатов из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки	От 0,8 до 20,0 включ	6,8	11,0
Яйца, яйцепродукты и продукты переработки яиц (в том числе яичный порошок, яичная масса, меланж)			
Субпродукты (в том числе птичьи) и продукты их переработки, мед, крем-мед	От 1,6 до 40,0 включ.	6,8	11,0

Значения оценок относительной суммарной стандартной неопределенности и относительной расширенной неопределенности, рассчитанные по данным эксперимента по оцениванию показателей точности [3], приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Неопределенность результатов измерений, получаемых согласно методике

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительная стандартная неопределенность $u, \%$	Относительная расширенная неопределенность $U, \%, k=2, P=95\%$
Молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, напитки и коктейли на молочной основе (в том числе йогуртные), молочные смеси, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, восстановленное сухое молоко	От 0,4 до 10,0 включ	14,0	28,0
Десерты на молочной основе, мороженое с наполнителями и без),	От 0,8 до 20,0 включ	14,0	28,0

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг	Относительная стандартная неопределенность u , %	Относительная расширенная неопределенность U , %, $k=2$, $P=95\%$
Десерты на молочной основе, мороженое на молочной основе, каши молочные готовые к употреблению, каши сухие молочные восстановленные, творог и продукты на его основе (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста, крема творожные и подобные продукты с наполнителями и без), творожный сыр, кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран, йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин и подобные продукты с наполнителями и без), сметана, пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, напитки на основе молочной сыворотки, восстановленный пермеат	От 0,8 до 20,0 включ	14,0	28,0
Масло сливочное, молочный жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко	От 0,8 до 20,0 включ	14,0	28,0
Сыр, сырные продукты и сырные пасты, изделия кулинарные сырные	От 0,8 до 20,0 включ	14,0	28,0
Мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, в том числе для детского питания, жиры животные, сало, в том числе шпик, и пищевая продукция их содержащая, мясо птицы, готовые к употреблению продукты из мяса птицы, полуфабрикаты, консервы из мяса птицы, в том числе для детского питания	От 0,8 до 20,0 включ	14,0	28,0
Рыба, переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки	от 0,8 до 20 вкл	14,0	28,0
Яйца, яйцепродукты и продукты переработки яиц (в том числе яичный порошок, яичная масса, меланж)	от 0,8 до 20 вкл	14,0	28,0
Субпродукты (в том числе птичьи) и продукты их переработки	От 1,6 до 40,0 включ.	14,0	28,0
Мед, крем-мед			

Данные о показателях точности измерений пределов количественного определения, избирательности, устойчивости, характеристиках градуировочных зависимостей были получены из внутрिलाбораторного эксперимента, организованного и подвергнутого анализу в соответствии с СТБ ISO 5725–2 и [1] в 2024 г. в испытательной лаборатории ООО «Альгимед Техно», г. Минск [3]. Экспериментальные данные были получены в условиях повторяемости и промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами: персонал, выполняющий измерения, время.

Для проведения экспериментальных исследований по оцениванию показателей точности измерений использовались образцы с добавками антибиотиков группы пенициллинов. Выбросов в совокупности экспериментальных данных обнаружено не было. Полученное в результате эксперимента значение лабораторного смещения признано незначимым для всех видов продукции во всех диапазонах измерений. Оценивание неопределенности проводилось в соответствии с ГОСТ 34100.3, СТБ ISO 21748, [2] на основании измерений, полученных при проведении эксперимента по оцениванию показателей точности [3].

Исследования предела количественного определения проводилось для вида продукции с максимальной оценкой показателя повторяемости (наихудший случай). Полученные экспериментальные оценки пределов количественного определения не превышали нижних границ диапазонов измерений методики. По результатам исследований пределов количественного определения, а также оценивания показателей точности на соответствующих уровнях испытаний, установленные диапазоны измерений являются подтвержденными.

При исследовании избирательности оценена перекрестная реактивность по отношению к следующим антибиотикам: тетрациклину, стрептомицину, хлорамфениколу, эритромицину и цефкиному.

Перекрестная реактивность по отношению к тетрациклину, стрептомицину, хлорамфениколу и эритромицину составила менее 0,1 %, по отношению к цефкиному – менее 3 %.

Устойчивость методики исследована и подтверждена в отношении наиболее существенно влияющих на измерение массовой доли антибиотиков группы пенициллинов параметров:

- температура инкубации иммуносорбента после добавления раствора пенициллинсвязывающего белка;
- температура инкубации иммуносорбента после добавления раствора конъюгата;
- температура инкубации иммуносорбента после добавления раствора тетраметилбензидина (ТМБ);
- время инкубации иммуносорбента после добавления конъюгата;
- температура инкубации иммуносорбента после добавления субстрата.

Полученные оценки характеристик градуированных зависимостей, построенных при проведении эксперимента, удовлетворяли следующим условиям:

- корень квадратный из коэффициента детерминации не менее 0,95%;
- абсолютное значение аналитической чувствительности, выраженной по отношению к натуральному логарифму массовой концентрации аналита – не менее 0,05;
- отношение максимального значения к минимальному значению аналитической чувствительности, выраженной по отношению к натуральному логарифму массовой концентрации аналита – не более 2.

4 Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам

4.1 Средства измерений

При выполнении измерений применяют средства измерений, приведенные в таблице 3.

Таблица 3 – Средства измерений

Тип средства измерений; модификация средства измерений	Метрологические и технические характеристики
1	2
Фотометр микропланшетный HiPo MPP-96	Спектральный диапазон от 400 до 700 нм фотометрический диапазон показаний от 0 до 4,3 Б; фотометрический диапазон измерений от 0 до 2 Б; пределы допускаемой абсолютной погрешности фотометра при измерении оптической плотности $\pm 0,02$ Б; пределы допускаемого среднего квадратичного отклонения результатов измерений оптической плотности 0,005 Б.
Комбинированный прибор testo 608-H1	Диапазон измерений температуры от 0 °С до плюс 50 °С; пределы допускаемой погрешности при измерении температуры $\pm 0,6$ °С; диапазон измерений относительной влажности от 10 % до 95 %; пределы допускаемой погрешности при измерении относительной влажности $\pm 3,0$ %
Весы электронные неавтоматического	Максимальная нагрузка 220 г;

Тип средства измерений; модификация средства измерений	Метрологические и технические характеристики
1	2
действия Pioneer PR224	минимальная нагрузка 0,01 г; действительная цена деления 0,0001 г; пределы допускаемой погрешности весов, в интервалах взвешивания от 0,01 г до 50 г включ., св. 50 г до 200 г. включ., св. 200 г до 220 г включ.: $\pm 0,0005$; $\pm 0,001$; $\pm 0,0015$ г соотв.; класс точности весов по ГОСТ OIML K 76-1 специальный I.
Термометры электронные серии HI HI 98501 Checktemp	Диапазон измерения температуры от минус 50 °С до плюс 150 °С; разрешающая способность 0,1 °С; пределы допускаемой абсолютной погрешности при измерении температуры $\pm 0,5$ °С.
Дозаторы механические Asura manual (модификации 825, 835, 855)	см. Приложение А
Секундомер электронный «Интеграл С-02»	см. Приложение А

Допускается применение других средств измерений с метрологическими и техническими характеристиками, не хуже указанных ниже:

а) фотометр микропланшетный, обеспечивающий измерение на длине волны 450 нм с пределами погрешности измерения оптической плотности $\pm 0,02$ Б в диапазоне измерений от 0 до 2 Б.

б) средство измерений температуры и относительной влажности воздуха:

– с диапазоном измерений температуры, включающим диапазон от плюс 15 °С до плюс 25 °С, и пределами допускаемой погрешности измерений температуры ± 1 %;

– с диапазоном измерений относительной влажности, включающим диапазон от 15 % до 80 %, и пределами допускаемой погрешности измерений относительной влажности ± 3 %.

в) дозаторы с диапазоном объемов дозирования от 0,020 до 0,200 см³ и пределами допускаемого относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 2,0$ %;

г) дозаторы с диапазоном объемов дозирования от 0,100 до 1,000 см³ и пределами допускаемого относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 1,5$ %;

д) дозаторы с диапазоном объемов дозирования от 0,50 до 10,00 см³ и пределами допускаемого относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 2,0 \%$;

е) дозаторы многоканальные с диапазоном объемов дозирования от 0,040 до 0,350 см³ и пределами допускаемого относительного отклонения фактического объема дозы от номинального $\pm 2,0 \%$;

ж) весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76–1 высокого класса точности с наибольшим пределом взвешивания до 200 г, действительной ценой деления не более 0,01 г;

з) термометр лабораторный частичного погружения с ценой деления 1 °С, с диапазоном измерения, включающим в себя диапазон значения от минус 18 °С до плюс 25 °С;

и) таймер электронный с действительной ценой деления не менее 0,1 с.

Все средства измерений должны являться средством измерения и быть внесены во ФГИС «Аршин» (Государственный реестр средств измерений РФ).

4.2 Вспомогательные устройства

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая относительное центробежное ускорение не менее 4000 g (пробирки вместимостью 15 см³), а также охлаждение до температуры плюс 10 °С, например, LMC-4200R, производства BioSan SIA, Латвия.

Холодильник бытовой, позволяющий поддерживать температуру от плюс 2 °С до плюс 8 °С в холодильной камере и не более минус 18 °С в морозильной камере.

Лабораторный вортекс, обеспечивающий частоту вращения не менее 1800 об/мин, например MSV-3500, производства BioSan SIA, Латвия, или лабораторный орбитальный шейкер, обеспечивающий частоту вращения до 250 об/мин, например, PSU-20i, производства BioSan SIA, Латвия, или лабораторный ротатор с вертикальным переворачиванием, обеспечивающий частоту вращения не менее 50 об/мин, например, Multi Bio RS-24, производства BioSan SIA, Латвия.

Гомогенизатор лабораторный типа TissueRuptor производства QIAGEN Group, Германия, или бытовой блендер.

Баня водяная, обеспечивающая поддержание температуры $(40 \pm 5) ^\circ\text{C}$; $(5 \pm 5) ^\circ\text{C}$.

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, со стабильностью

установки температуры $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, например, Thermomixer comfort в комплекте с термоблоком для микротитровальных планшетов, производства Eppendorf AG, Германия;

– устройство отмывки микротитровальных планшетов автоматическое с диапазоном объемов моющего раствора, заливаемого в каждую микроювету от 100 до 350 мм³, например, 3D-IW8, производства BioSan SIA, Латвия.

Допускается применение других вспомогательных устройств с техническими характеристиками не хуже указанных.

4.3 Программное обеспечение

Шаблон для обработки результатов измерений средствами Microsoft® Office Excel (версии не ниже Excel 2007) «Шаблон ALMUNO Penicillin», разработанный ООО «Альгимед Техно» (далее – шаблон для обработки результатов).

Использование следующего программного обеспечения не является обязательным, но рекомендуется для увеличения производительности: специализированное программное обеспечение для выгрузки данных измерения оптической плотности и обработки результатов ИФА, поставляемое с планшетным фотометром.

4.4 Материалы, реактивы

Пленка «парафильм» или скотч.

Микрофибровые салфетки для очистки оптических поверхностей.

Штатив для пробирок.

Пробирки пластиковые для центрифугирования вместимостью 15; 50 см³.

Пробирки стеклянные вместимостью 5; 10 см³.

Пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) пластиковые вместимостью 1,5 или 2,0 см³.

Колбы конические вместимостью 25; 50; 100; 250; 500 см³ по ГОСТ 25336.

Пипетки типа 1-2-2-1, 1-2-2-5 и 1-2-2-10 по ГОСТ 29227.

Стаканы вместимостью 25; 100, 150 см³ типа Н-1-25, Н-1-100, Н-1-150 по ГОСТ 25336.

Цилиндры мерные вместимостью 25; 100 см³ типа 1-25-2, 1-100-2 по ГОСТ 1770.

V-образные одноразовые ванночки для реагентов (для многоканальных дозаторов) или аналогичные вместимостью от 50 до 60 см³.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 (ГОСТ Р 58144) или деионизированная.

Метанол по ГОСТ 6995.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Растворы пенициллина G для проведения контроля правильности, соответствующие требованиям 13.5. Допускается использованием чистого пенициллина G для приготовления растворов для проведения контроля правильности при обеспечении их соответствия требованиям 13.5.

Моющее средство (детергент) для очистки лабораторной посуды после анализа, не содержащее ферментных или ингибирующих добавок, перекиси водорода и сильных окисляющих агентов. Рекомендуется использовать лабораторный детергент.

Набор реагентов «ALMUNO Penicillin» по [4] – набор реактивов и иммуносорбент (разборный микротитровальный планшет с иммобилизованным пенициллином G), необходимые для выполнения измерений для определения антибиотиков группы пенициллинов методом иммуноферментного анализа в составе, приведенном в Приложении Б.

Примечание – Допускается применение материалов и реактивов с характеристиками и по качеству не хуже указанных (кроме набора реагентов «ALMUNO Penicillin»).

5 Метод измерений

Измерение массовой доли антибиотиков группы пенициллинов по настоящей методике измерений выполняют методом, основанным на конкурентном иммуноферментном анализе. В ходе анализа в лунки иммуносорбента, сенсibilизированного пенициллином G, вместе с пробой добавляют биотинилированный пенициллинсвязывающий белок (ПСБ), специфичный к антибиотикам группы пенициллинов. Пенициллины, присутствующие в растворе исследуемой пробы или в градуировочных растворах, конкурируют с антибиотиком, нанесенным на стенки лунок иммуносорбента, за связыванием с ПСБ. Далее в лунки иммуносорбента вносят конъюгат стрептавидин-пероксидаза, происходит связывание стрептавида конъюгата с биотином ПСБ. В результате формируется комплекс пенициллин – ПСБ – конъюгат. После добавления ТМБ-субстрата, а затем стоп-реагента, измеряют оптическую плотность раствора при 450 нм. Измеренная оптическая плотность находится в обратной зависимости от массовой концентрации пенициллина в градуировочных растворах и растворах исследуемых проб. Массовую долю пенициллинов в образце определяют по градуировочной зависимости, построенной с использованием градуировочных растворов.

6 Требования безопасности и требования к квалификации операторов

6.1 Общие требования безопасности

При выполнении работ в соответствии с данной методикой 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;
- инструкции (или иного документа) по сбору и утилизации используемых веществ, действующей в организации, выполняющей измерения по методике;
- персонал, работающий с метанолом и его растворами, должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования инструкции по технике безопасности при работе с метанолом, действующей в организации, выполняющей измерения по методике;
- все работы с метанолом и его растворами должны проводиться в вытяжном шкафу с использованием средств индивидуальной защиты (фартуки, перчатки, очки). Запрещено работать с метанолом при выключенной приточно-вытяжной вентиляции и без применения средств индивидуальной защиты.

6.2 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.

7 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 плюс 25 °С.

7.1 Условия инкубации иммуносорбента в помещении

При отсутствии инкубатора иммуносорбент можно инкубировать в помещении при выполнении следующих условий:

- температура окружающего воздуха должна быть от плюс 20 °С до плюс 25 °С;
- не должно происходить попадание прямых солнечных лучей на иммуносорбент;

- иммуносорбент 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 относительной влажности воздуха менее 40% и наличии воздушных потоков с целью устранения возможности испарения содержимого лунок рекомендуется покрывать планшет пленой «парафилм» или заклеивать скотчем;
- в особых случаях, которые оговорены по тексту методики измерений, требуется помещать иммуносорбент в защищенное от света место, например, в ящик стола.

7.2 Условия хранения набора реагентов

Хранение набора реагентов осуществляется в холодильнике при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в оригинальных флаконах и упаковке.

Иммуносорбент должен храниться в плотно закрытой упаковке. Дополнительные рекомендации по хранению набора реагентов приведены в инструкции производителя [5].

8 Подготовка к выполнению измерений

8.1 Отбор образцов

Отбор проб (образцов) для анализа проводят по СТБ 1036, ГОСТ 30364.0, ГОСТ 31467, ГОСТ 7269, ГОСТ 26809.1, ГОСТ 26809.2, ГОСТ 8756.0, ГОСТ 34668 и другим документам, регламентирующим требования к отбору проб пищевой продукции.

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 18 °С в течение не более 14 суток (при необходимости допускается хранение проб до 2 месяцев). Перед проведением подготовки проб замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

8.2 Подготовка лабораторной посуды

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

ЗАПРЕЩАЕТСЯ повторное использование одноразовой лабораторной посуды.

8.3 Приготовление растворов

8.3.1 Приготовление экстракционного буфера

В стеклянную пробирку вместимостью 5 см³ или 10 см³ или колбу коническую вместимостью 25 см³ или 100 см³ (в зависимости от объема приготавливаемого раствора) вносят отмеренную дозатором или мерным цилиндром аликвоту концентрата экстракционного буфера (10х) объемом не менее 0,200 см³ и добавляют отмеренную дозатором или мерным цилиндром вместимостью 25 см³ или 100 см³ (в зависимости от добавляемого объема) дистиллированную воду. Объем добавляемой дистиллированной воды должен быть в девять раз больше, чем объем концентрата экстракционного буфера. Содержимое колбы тщательно перемешивают.

При хранении концентрата экстракционного буфера (10х) при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С возможно выпадение осадка. При наличии осадка перед использованием выдерживают флакон с концентратом экстракционного буфера (10х) при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С или на водяной бане при температуре от плюс 35 °С до плюс 50 °С, перемешивая до полного растворения осадка.

Объем используемой аликвоты концентрата экстракционного буфера (10х) V , см³, рассчитывается на основании количества анализируемых образцов всех видов продукции с учетом параллельных проб каждого образца по формуле:

$$V = \frac{0,8N_{smp1} + 18N_{smp2} + 8,4N_{smp4} + 2,8N_{smp5} + 8,6N_{smp6} + V_1}{10}, \quad (1)$$

где N_{smp1} – количество анализируемых образцов молока (сырого, пастеризованного, стерилизованного, ультрапастеризованного), молока сухого восстановленного, сливок, напитков и коктейлей на молочной основе, молочных смесей и восстановленных сухих молочных смесей для детского питания;

N_{smp2} – количество анализируемых образцов десертов на молочной основе, мороженого на молочной основе, каш молочных готовых к употреблению, каш сухих молочных восстановленных, творога и творожных продуктов, творожного сыра, кисломолочных продуктов, сметаны, пахты, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, напитков на основе молочной сыворотки, пермеата, сыра, сырных продуктов и сырных паст изделий кулинарных сырных, мяса. Готовых к употреблению мясных продуктов, полуфабрикатов и консервов мясных и мясорастительных .сала, шпика, жиров животных, субпродуктов, мяса птицы, готовых к употреблению продуктов из мяса птицы, полуфабрикатов, консервов из мяса птицы, рыбы, переработанной и непереработанной пищевой рыбной продукции, креветок;

N_{smp3} – количество анализируемых образцов масла сливочного, молочного жира, сливочно-растительного спреда, сгущенного молока;

N_{smp4} – количество анализируемых образцов субпродуктов (в том числе птичьих) и продуктов их переработки;

N_{smp5} – количество анализируемых образцов яиц, яйцепродуктов и продуктов переработки яиц;

N_{smp6} – количество анализируемых образцов меда, крем-меда.

V_1 – объем экстракционного буферного раствора, приготавливаемого в запас, не менее 1 см³.

8.3.2 Приготовление смеси метанол-экстракционный буфер с объемным отношением 1:1

В коническую колбу вместимостью 100 см³ вносят отмеренные мерным цилиндром 50 см³ раствора экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1, и добавляют 50 см³ метанола, отмеренного мерным цилиндром. Содержимое колбы тщательно перемешивают. Хранят раствор при комнатной температуре (от плюс 20 °С до плюс 25 °С) в плотно закрытой посуде из темного стекла не более трех месяцев.

8.3.3 Приготовление смеси метанол-экстракционный буфер с объемным отношением 7:3

В коническую колбу вместимостью 100 см³ вносят отмеренные мерным цилиндром 30 см³ раствора экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1, и добавляют 70 см³ метанола, отмеренного мерным цилиндром. Содержимое колбы тщательно перемешивают. Хранят раствор при комнатной температуре (от плюс 20 °С до плюс 25 °С) в плотно закрытой посуде из темного стекла не более трех месяцев.

8.3.4 Приготовление раствора пенициллина G с массовой концентрацией 1000 нг/см³

К содержимому флакона с основным стандартом пенициллина G (1000 нг) добавляют 1,000 см³ буфера для приготовления градуировочных растворов, отмеренного дозатором. Затем содержимое закрытого флакона перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Полученный основной раствор пенициллина G может быть разделен на аликвоты и храниться при температуре не более минус 18 °С не более 4 месяцев. После размораживания аликвоту основного раствора пенициллина G необходимо тщательно перемешать путем многократного пипетирования (15 – 20 раз). Повторное замораживание/ размораживание основного раствора пенициллина не допускается.

8.3.5 Приготовление градуировочных растворов пенициллина

Градуировочные растворы пенициллина G готовят путем последовательного разбавления основного раствора пенициллина G (1000 нг/см³) следующим

образом. В соответствующий флакон для градуировочных растворов вносят аликвоту основного раствора пенициллина G и аликвоту экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1. Раствор пенициллина G, из которого отбирается аликвота, и объем аликвот раствора и буфера, используемых для приготовления градуировочных растворов, указаны в таблице 4. Затем содержимое закрытого флакона перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Таблица 4 – Схема приготовления градуировочных растворов пенициллина G

Номер градуировочного раствора	Массовая концентрация пенициллина G, нг/см ³	Источник аликвоты раствора пенициллина G для приготовления градуировочного раствора	Объем аликвоты раствора пенициллина G	Объем экстракционного буфера
7	20,00	Основной раствор пенициллина G (1000 нг/см ³)	0,020 см ³	0,980 см ³
6	2,00	град. раствор №7	0,100 см ³	0,900 см ³
5	0,80	град. раствор №6	0,400 см ³	0,600 см ³
4	0,40	град. раствор №5	0,500 см ³	0,500 см ³
3	0,20	град. раствор №4	0,500 см ³	0,500 см ³
2	0,08	град. раствор №3	0,500 см ³	0,750 см ³
1	0,00	-		0,500 см ³

После использования остатки градуировочных растворов должны быть удалены из флаконов, подлежащих хранению. Пустые флаконы должны храниться в составе набора реагентов в холодильнике при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение срока годности набора реагентов и могут использоваться при последующем приготовлении градуировочных растворов.

8.3.6 Приготовление промывочного раствора

Отмеренную дозатором аликвоту концентрата промывочного раствора (20х), объемом от 1 до 9 см³ вносят в коническую колбу вместимостью 250 см³ или 500 см³ (в зависимости от объема приготавливаемого раствора) и добавляют отмеренную мерным цилиндром вместимостью 25 см³ или 100 см³ (в зависимости от добавляемого объема) дистиллированную воду, объем которой должен быть в 19 раз больше объема аликвоты концентрата промывочного раствора (20х). После перемешивания содержимое колбы переливают в емкость с закручивающейся пробкой. Если приготовленный объем раствора не превышает 50 см³, то для его приготовления и хранения могут использоваться пробирки для центрифугирования вместимостью 50 см³.

Полученный раствор хранят при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С не более 6 недель в стеклянной или полиэтиленовой посуде.

8.3.7 Приготовление раствора ПСБ

Микропробирку с концентратом ПСБ (50х) центрифугируют в течение 30 с при 1500 g.

Отмеряют дозатором необходимое количество буфера для разведения ПСБ, рассчитанное в соответствии с количеством используемых стрипов (таблица 5), и переносят в пробирки для центрифугирования вместимостью 2 см³ или 15 см³ (в зависимости от объема приготавливаемого раствора). С помощью дозатора в пробирки переносят концентрат ПСБ объемами, указанными в таблице 5, в зависимости от количества используемых стрипов. Раствор в пробирках тщательно перемешивают, избегая образования пены.

Таблица 5 – Приготовление раствора ПСБ

Количество используемых стрипов	Концентрат ПСБ, см ³	Буфер для разведения ПСБ, см ³	Количество используемых стрипов	Концентрат ПСБ, см ³	Буфер для разведения ПСБ, см ³
1	0,020	0,980	7	0,140	6,860
2	0,040	1,960	8	0,160	7,840
3	0,060	2,940	9	0,180	8,820
4	0,080	3,920	10	0,200	9,800
5	0,100	4,90	11	0,220	10,780
6	0,120	5,880	12	0,240	11,760

8.4 Подготовка проб

Измерение объемов растворов, отбираемых дозаторами в диапазонах дозирования:

– от 0,100 до 1,000 см³, проводят с дискретностью измерений объемов 0,001 см³;

– от 0,50 до 5,00 см³ проводят с дискретностью измерения объемов 0,01 см³.

Измерения масс навесок проб проводят с дискретностью 0,01 г.

8.4.1 Подготовка проб молока (сырого, пастеризованного, стерилизованного, ультрапастеризованного), сливок, напитков и коктейлей на молочной основе (в том числе йогуртных), молочных смесей, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания, восстановленного сухого молока

8.4.1.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С. выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. Образцы тщательно перемешивают.

8.4.1.2 Восстановление сухого молока, сухих молочных смесей для детского питания

Пробы сухого молока перемешивают и восстанавливают согласно ГОСТ 30305.4 следующим образом. В стаканы вместимостью 100 см³ или 150 см³

помещают две параллельные навески пробы сухого молока, подготовленного по п. 8.4.1.1. Массы навесок в зависимости от содержания жира составляют:

- 9,00 г сухого обезжиренного молока;
- 12,00 г сухого молока с содержанием жира 20 %;
- 12,50 г сухого молока с содержанием жира 25 %;
- 10,50 г сухого молока с содержанием жира 15 %.

Затем в стаканы с навесками порциями по 10 см³ приливают дистиллированную воду, нагретую до температуры плюс 40 °С на водяной бане, тщательно растирая комочки стеклянной палочкой до полного растворения образца. После растворения сухого молока растворы из стаканов количественно переносят в мерные колы вместимостью 100 см³, доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают вручную встряхиванием и выдерживают от 15 до 20 мин при температуре плюс 20 °С до плюс 25 °С.

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

8.4.1.3 Получение обезжиренных проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ отбирают аликвоты проб по 5,0 см³. Пробирки центрифугируют в следующем режиме: плюс 10 °С, 4000 g, 10 мин. При отсутствии центрифуги с охлаждением пробирки перед центрифугированием выдерживают в морозильной камере холодильника в течение от 10 до 15 мин, охлаждая пробы до температуры от плюс 2 °С до плюс 8 °С, контролируя температуру термометром. Шпателем или пипеткой Пастера удаляют верхний жировой слой, образовавшийся на поверхности после центрифугирования.

Восстановленные пробы обезжиренного сухого молока обезжириванию не подвергают.

8.4.1.4 Получение растворов проб

В пробирки типа Эппендорф вместимостью от 1,5 до 2,0 см³ отбирают дозатором аликвоты обезжиренных проб объемом 0,100 см³, полученные по п. 8.4.1.3, избегая попадания жира (для чего вытирают наконечник дозатора фильтровальной бумагой), после чего в каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 0,400 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1, и перемешивают в течение 1 мин на вортексе.

Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более 1 часа.

8.4.2 Подготовка проб десертов на молочной основе, мороженого на молочной основе, каш молочных готовых к употреблению, каш сухих молочных восстановленных, творога и продуктов на его основе (в том числе творожных сырков, зерненного творога, творожной массы, творожной пасты, кремов творожных и подобных продуктов с наполнителями и без), творожного сыра, кисломолочных продуктов (кефира, ряженки, айрана, йогурта, простокваши, варенца, ацидофилина и подобных продуктов с наполнителями и без), сметаны, пахты, молочной сыворотки, восстановленной сухой молочной сыворотки, напитков на основе молочной сыворотки, восстановленного пермеата.

8.4.2.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. При наличии в образце частиц твердой консистенции их удаляют. Из образцов мороженого и глазированных творожных сырков предварительно удаляют шоколадную глазурь, вафельную оболочку и другие твердые немолочные включения. Образцы тщательно перемешивают, при необходимости образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

8.4.2.2 Восстановление каш сухих молочных, пермеата

Восстановление проб каш сухих молочных и пермеата производят в соответствии с инструкцией производителя продукции.

8.4.2.3 Восстановление сухой молочной сыворотки

В стаканы вместимостью 100 см³ или 150 см³ помещают 2 параллельные навески пробы сухой молочной сыворотки, подготовленной по п. 8.4.2.1, массой 6,25 г. Затем в стаканы с навесками порциями по от 5 до 10 см³ приливают дистиллированную воду, перемешивая содержимое стеклянной палочкой до полного растворения пробы. После растворения сухой молочной сыворотки растворы из стаканов количественно переносят в мерные колбы вместимостью 100 см³, доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают вручную и выдерживают от 15 до 20 мин при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С.

8.4.2.4 Получение растворов проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ из пробы, полученной по п. 8.4.2.1 – 8.4.2.3, отбирают две параллельные навески массой 1,00 г. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 9,00 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1. Далее пробирки перемешивают в течение 3 мин на вортексе на максимальной скорости. После чего пробирки с пробами центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С. Аликвоту супернатанта в объеме

0,50 см³ переносят дозатором в пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) вместимостью от 1,5 до 2,0 см³.

Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более 1 часа.

8.4.3 Подготовка проб масла сливочного, молочного жира, сливочно-растительного спреда, сгущенного молока

8.4.3.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С. выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. Образцы тщательно перемешивают, при необходимости образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

8.4.3.2 Получение растворов проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ из пробы, полученной по п. 8.4.3.1, отбирают две параллельные навески массой 1,00 г. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 4,00 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1, и инкубируют 2 мин при температуре плюс 50 °С на водяной бане, периодически перемешивая вручную путем переворачивания пробирки. Далее пробирки перемешивают в течение 5 мин на вортексе на максимальной скорости, после чего пробирки с пробами центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С. Аликвоту супернатанта в объеме 0,200 см³ переносят дозатором в пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) вместимостью от 1,5 до 2,0 см³. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 0,200 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более 1 часа.

8.4.4 Подготовка проб сыра, сырных продуктов и сырных паст, изделий кулинарных сырных

8.4.4.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С. выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. При наличии в образце частиц твердой консистенции их удаляют. У образцов сыра отделяют тесто от корки, полимерно-парафинового или воскового сплава, измельчают тесто с помощью терки. От образцов изделий кулинарных сырных предварительно удаляют оболочку, панировку и другие

твердые включения. Образцов тщательно перемешивают, при необходимости образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

8.4.4.2 Получение растворов проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ из пробы, полученной по п. 8.4.4.1, отбирают две параллельные навески массой 1,00 г. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 9,00 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1, и перемешивают в течение 3 мин на вортексе на максимальной скорости, после чего пробирки с пробами центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С. Аликвоту супернатанта в объеме 0,500 см³ переносят дозатором в пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) вместимостью от 1,5 до 2,0 см³. Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более 1 часа.

8.4.5 Подготовка проб мяса, готовых к употреблению мясных продуктов, полуфабрикатов мясных и мясорастительных, консерв мясных и мясорастительных, в том числе для детского питания, жиров животных, сала, в том числе шпика, и пищевой продукции, их содержащих, мяса птицы, готовых к употреблению продуктов из мяса птицы, полуфабрикатов, консерв из мяса птицы, в том числе для детского питания, рыбы, переработанной и непереработанной пищевой рыбной продукции животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия и полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветок

8.4.5.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. От образцов готовых к употреблению продуктов и полуфабрикатов предварительно удаляют оболочку, панировку и другие твердые включения. Образцы тщательно перемешивают, при необходимости образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

8.4.5.2 Получение растворов проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ из пробы, полученной по п. 8.4.5.1, отбирают две параллельные навески массой 1,00 г. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 9,00 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1, и перемешивают в течение 3 мин на вортексе на максимальной скорости, после чего пробирки с пробами центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С. Аликвоту супернатанта в объеме 0,500 см³ переносят дозатором в пробирки

микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) вместимостью от 1,5 до 2,0 см³. Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более 1 часа.

8.4.6 Подготовка проб субпродуктов (в том числе птичьих) и продуктов их переработки

8.4.6.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. Образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

8.4.6.2 Получение растворов проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ из пробы, полученной по п. 8.4.6.1, отбирают две параллельные навески массой 1,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 9,00 см³ смеси метанол-экстракционный буфер с объемным отношением 1:1, приготовленного по п. 8.3.2, и перемешивают в течение 5 мин на вортексе на максимальной скорости, после чего пробирки с пробами центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С. Аликвоту супернатанта в объеме 0,200 см³ переносят дозатором в пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) вместимостью от 1,5 до 2,0 см³. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 0,200 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С не более 1 часа.

8.4.7 Подготовка проб яиц, яйцепродуктов и продуктов переработки яиц (в том числе яичного порошка, яичной массы, меланжа)

8.4.7.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °С до плюс 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. Образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера. У образцов яиц отделяют скорлупу и гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

Пробы сухих яичных продуктов перемешивают и восстанавливают согласно ГОСТ 30364.0 следующим образом. В стаканы вместимостью 100 см³ или 150 см³ помещают 2 параллельные навески образца сухих яичных продуктов массой 20,00 г. Затем в стаканы с навесками порциями по от 5 до 10 см³ приливают 80 см³

дистиллированной воды температурой $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и оставляют на 15 мин для набухания.

8.4.7.2 Получение растворов проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ от пробы, полученной по п. 8.4.7.1, отбирают две параллельные навески массой 1,00 г. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 4,00 см³ смеси метанол-экстракционный буфер с объемным отношением 7:3, приготовленного по п. 8.3.3, и перемешивают в течение 3 мин на вортексе на максимальной скорости, после чего пробирки с пробами центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин при температуре от плюс 20 °C до плюс 25 °C. Аликвоту супернатанта в объеме 0,200 см³ переносят дозатором в пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) вместимостью от 1,5 до 2,0 см³. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 0,200 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °C до плюс 25 °C не более 1 часа.

8.4.8 Подготовка проб меда, крем-меда

8.4.8.1 Предварительная подготовка проб

Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 8.1, от плюс 20 °C до плюс 25 °C, выдерживая его при комнатной температуре в течение 30 мин. Образцы тщательно перемешивают, при необходимости образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера

8.4.8.2 Получение растворов проб

В пробирки для центрифугирования вместимостью 15 см³ от пробы, полученной по п. 8.4.8.1, отбирают две параллельные навески массой 1,00 г, взвешенные с точностью до 0,01 г. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 4,00 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1, и инкубируют 2 мин при температуре плюс 50 °C на водяной бане, периодически перемешивая вручную путем переворачивания пробирки. Далее пробирки перемешивают в течение 5 мин на вортексе на максимальной скорости, после чего пробирки с пробами центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин при температуре от плюс 20 °C до плюс 25 °C. Аликвоту супернатанта в объеме 0,100 см³ переносят дозатором в пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) вместимостью от 1,5 до 2,0 см³. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 0,300 см³ экстракционного буфера, приготовленного по п. 8.3.1. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Полученные подготовленные пробы используют для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных растворов проб при температуре от плюс 20 °C до плюс 25 °C не более 1 часа.

8.5 Подготовка набора реагентов

8.5.1 Предварительная подготовка и правила обращения с наборами реагентов

Набор реагентов извлекают из холодильника и не открывая упаковку иммуносорбента, выдерживают при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С в течение 30 мин, доводят температуру остальных реагентов от плюс 20 °С до плюс 25 °С.

При работе компоненты набора реагентов должны находиться вне зоны попадания прямых солнечных лучей.

Перед использованием жидкие реагенты необходимо перемешать путем осторожного вращения или переворачивания флаконов. Не допускается переливать обратно в оригинальные флаконы.

8.5.2 Подготовка иммуносорбента

Количество лунок иммуносорбента, необходимых для проведения измерений N_w , рассчитывается по формуле

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

где N_w – количество одновременно анализируемых образцов и градуировочных растворов;

N_{SMP} – количество анализируемых образцов.

12 – количество лунок для градуировочных растворов.

Стрипы иммуносорбента, подготовленного в соответствии с п. 8.5.1, вынимают из упаковки. В рамку иммуносорбента помещают необходимое количество стрипов, рассчитанное по формуле (2), исходя из требуемого для проведения измерения количества лунок N_w . Оставшиеся стрипы сразу же помещают в упаковку обратно. Упаковку закрывают и хранят в соответствии с разделом 7.

Разметку лунок для градуировочных растворов и проб проводят согласно схеме, предлагаемой Шаблоном для обработки результатов.

Не рекомендуется одновременно использовать более шести стрипов. Допускается выполнение ИФА более чем с шестью стрипами одновременно при выполнении требований 9.2.

9 Выполнение измерений

9.1 Общие требования

Для проведения измерений используют пробы, подготовленные в соответствии с п. 8.4. Компоненты набора реагентов подготавливают в соответствии с п. 8.5.

9.2 Требования к выполнению ИФА при использовании более шести стрипов одновременно

При использовании более чем шести стрипов одновременно внесение раствора ПСБ по п. 9.3.2, конъюгата по п. 9.3.5, ТМБ-субстрата по п. 9.3.8, стоп-реагента по п. 9.3.10 проводят с использованием многоканального дозатора. Отбор указанных выше реагентов многоканальным дозатором производят из предварительно наполненных соответствующим раствором одноразовых пластиковых ванночек для реагентов.

При этом **НЕ ДОПУСКАЕТСЯ**:

- выливать раствор из одноразовой пластиковой ванночки обратно во флакон;
- использовать одноразовую пластиковую ванночку повторно.

9.3 Дозирование компонентов набора реагентов и последовательность операция при выполнении анализа

Измерения объемов растворов, отбираемых дозаторами в диапазонах объемов дозирования от 0,020 до 0,200 см³ проводят с дискретностью измерения объемов 0,0002 см³, от 0,100 до 1,00 см³ проводят с дискретностью измерения объемов 0,001 см³; измерения объемов растворов, отбираемых многоканальным дозатором в диапазоне дозирования от 0,050 до 0,350 см³ проводят с дискретностью измерения объемов 0,0004 см³.

9.3.1 Внесение градуировочных растворов и растворов проб

В лунки иммуносорбента, размеченного согласно п. 8.5.2, вносят отобранные дозатором две аликвоты объемом 0,050 см³ каждого градуировочного раствора, приготовленного по 8.3.5. Каждую аликвоту вносят в отдельную лунку, внесение производится в порядке возрастания массовых концентраций градуировочных растворов (т.е. 0,00; 0,08; 0,20; 0,40; 0,80; 2 нг/см³). Затем в соответствующие лунки иммуносорбента вносят отобранные дозатором аликвоты объемом 0,050 см³ двух параллельных проб каждого образца.

9.3.2 Добавление раствора ПСБ

В каждую лунку иммуносорбента с градуировочными растворами и растворами проб вносят отмеренные дозатором 0,100 см³ раствора ПСБ, приготовленного по п. 8.3.7. Перемешивают содержимое лунок медленными круговыми движениями иммуносорбента по поверхности стола.

9.3.3 Инкубация иммуносорбента

Помещают иммуносорбент в инкубатор при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С и инкубируют в течение 30 мин. При отсутствии инкубатора иммуносорбент инкубируют в течение 30 мин в защищенном от света месте в помещении при условиях, указанных в п. 7.1.

9.3.4 Промывка иммуносорбента

По окончании инкубации выливают содержимое лунок иммуносорбента путем резкого переворачивания рамки иммуносорбента. Промывают иммуносорбент три раза, добавляя при этом каждый раз многоканальным дозатором в лунки по $0,250 \text{ см}^3$ промывочного раствора, приготовленного по п. 8.3.6, и затем, выливая содержимое лунок, резко переворачивая иммуносорбент.

Рекомендуется проводить процедуру промывки иммуносорбента с помощью устройства для отмывки иммуносорбента, задавая следующие параметры программы: количество циклов промывки – три, объем заливаемого моющего раствора – $0,250 \text{ см}^3$.

После последнего промывания иммуносорбент переворачивают и удаляют остатки жидкости легким постукиванием по поверхности стола, накрытого сухим листом фильтровальной бумаги.

Выполняют следующий этап сразу после промывания иммуносорбента. Не допускается высыхание иммуносорбента на воздухе в перерывах между этапами работы.

9.3.5 Добавление конъюгата

В каждую лунку иммуносорбента с грудуировочными растворами и растворами проб вносят отмеренные дозатором $0,150 \text{ см}^3$ конъюгата. Перемешивают содержимое лунок медленными круговыми движениями иммуносорбента по поверхности стола.

9.3.6 Инкубация иммуносорбента после добавления конъюгата

Помещают иммуносорбент в инкубатор при температуре от плюс 20°C до плюс 25°C и инкубируют в течение 30 мин. При отсутствии инкубатора иммуносорбент инкубируют в течение 30 мин в защищенном от света месте в помещении при условиях, указанных в п. 7.1.

9.3.7 Промывка иммуносорбента

По окончании инкубации промывают лунки иммуносорбента в соответствии с указаниями, приведенными в 9.3.4.

9.3.8 Добавление ТМВ-субстрата

Сразу же после удаления остатков промывочного раствора в лунки иммуносорбента добавляют отмеренные дозатором $0,100 \text{ см}^3$ ТМВ-субстрата, после чего сразу же начинают отсчет времени инкубации. Перемешивают содержимое лунок медленными круговыми движениями иммуносорбента по поверхности стола.

Не допускается выливать обратно в оригинальный флакон остатки ТМВ-субстрата во избежание его контаминации.

9.3.9 Инкубация иммуносорбента

Помещают иммуносорбент в инкубатор при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С и инкубируют в течение 15 мин. При отсутствии инкубатора иммуносорбент инкубируют в течение 15 мин в защищенном от света месте в помещении при условиях, указанных в 7.1.

9.3.10 Завершение реакции окрашивания

Сразу же после окончания времени инкубации в каждую лунку вносят по 0,100 см³ стоп-реагента и аккуратными круговыми движениями иммуносорбента перемешивают содержимое лунок.

9.3.11 Измерение оптической плотности

Сразу же после перемешивания протирают микрофибровой салфеткой нижнюю наружную поверхность лунок и измеряют оптическую плотность раствора в лунках иммуносорбента с помощью автоматического микропланшетного фотометра при длине волны 450 нм. Измерения проводят в соответствии с эксплуатационной документацией фотометра не позднее 5 мин после добавления стоп-реагента по п. 9.3.10.

10 Обработка результатов измерения

10.1 Расчет массовой доли пенициллина в пробах

Результаты измерений оптической плотности вводятся оператором в шаблон для обработки результатов измерений. Шаблон для обработки результатов измерений выполняет построение градуировочной зависимости относительной оптической плотности, B/B_0 , от натурального логарифма массовой концентрации пенициллина, $\ln C$, вида

$$B/B_0 = a + b \cdot \ln C, \quad (3)$$

где B – оптическая плотность раствора пенициллина;

B_0 – оптическая плотность 1-го градуировочного раствора с массовой концентрацией пенициллина 0 нг/см³.

Расчет коэффициентов линейной регрессии a , b производится с помощью метода наименьших квадратов на основании пар значений B_i/B_0 , $\ln C_i$, полученных для пяти градуировочных растворов, где ($i=2 \dots 6$), C_i – массовая концентрация i -го градуировочного раствора, B_i – среднее значение оптической плотности, рассчитанное по двум значениям результатов измерений оптической плотности i -го градуировочного раствора.

Массовая доля антибиотиков группы пенициллинов в пробе X , мкг/кг, рассчитывается на основании результатов измерений оптической плотности

раствора подготовленной пробы, коэффициентов линейной регрессии и фактора разбавления по формуле

$$X = F \cdot \exp\left(\frac{Bx - a}{b}\right), \quad (4)$$

где F – фактор разбавления пробы, приведенный в таблице 6;

e – математическая константа, основание натурального логарифма, приблизительно равная 2,71828;

B_x – оптическая плотность, полученная при измерении раствора пробы.

Таблица 6 – Значение факторов разбавления для подготовленных проб

Виды продукции	Фактор разбавления
Молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, напитки и коктейли на молочной основе (в том числе йогуртные), молочные смеси, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, восстановленное сухое молоко	5
Десерты на молочной основе, мороженое на молочной основе, каши молочные готовые к употреблению, каши сухие молочные восстановленные, творог и продукты на его основе (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста, крема творожные и подобные продукты с наполнителями и без), творожный сыр, кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран, йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин и подобные продукты с наполнителями и без), сметана, пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, напитки на основе молочной сыворотки, восстановленный пермеат	10
Масло сливочное, молочный жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко	10
Сыр, сырные продукты и сырные пасты, изделия кулинарные сырные	10
Мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, в том числе для детского питания, жиры животные, сало, в том числе шпик, и пищевая продукция их содержащая, мясо птицы, готовые к употреблению продукты из мяса птицы, полуфабрикаты, консервы из мяса птицы, в том числе для детского питания, рыба, переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия из полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки	10
Яйца, яйцепродукты и продукты переработки яиц (в том числе яичный порошок, яичная масса, меланж)	10
Субпродукты (в том числе птичьи) и продукты их переработки	20
Масло сливочное, молочный жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко	20

10.2 Расчет и интерпретация окончательного результата измерений

На основании двух полученных результатов единичных измерений массовой доли антибиотиков группы пенициллинов рассчитывают среднее арифметическое $\bar{X}$, мкг/кг по формуле

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (5)$$

где X_1 , X_2 – результаты двух измерений массовой доли антибиотиков группы пенициллинов в параллельных пробах, мкг/кг.

Рассчитанное значение $\bar{X}$ округляют до трех значащих цифр.

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается больше, чем значение верхней границы диапазона измерений, указанного в разделе 3, то окончательный результат измерений представляют в форме односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы пенициллинов в образце согласно п. 11.3.

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается меньше, чем нижняя граница диапазона измерений, то окончательный результат измерений выражают в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы пенициллинов в образце согласно п. 11.3.

В остальных случаях проводят контроль повторяемости по п. 12.2 и при получении положительного результата контроля за результат измерений принимают значение $\bar{X}$.

10.3 Критерии правильности выполнения измерений

При наличии в паспорте качества или эквивалентном документе, сопровождающем набор реагентов для измерения массовой доли антибиотиков группы пенициллинов ALMUNO Penicillin, установленных критериев правильности выполнения измерений, например, минимальное значение оптической плотности для лунки с градуировочным стандартом 0 нг/см³ или допустимый диапазон величины B_i/B_0 , критерии должны быть соблюдены.

10.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5726-6 (ГОСТ Р ИСО 5725-6).

При проведении проверки 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

$$|X_1 - X_2| \leq r_{abs}, \quad (6)$$

то оба результата считают приемлемыми и в качестве результата измерений указывают среднее арифметическое значение $\bar{X}$, рассчитанное по формуле (5). Абсолютное значение предела повторяемости r_{abs} , мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$r_{abs} = 0,01 \cdot r \cdot \bar{X}, \quad (7)$$

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

r – относительное значение предела повторяемости, %, приведено в таблице 7.

При невыполнении условия (6) проводят повторные измерения согласно разделу 9.

Все значения, полученные в ходе обработки результатов измерений, в том числе промежуточные, подлежат регистрации в соответствии с порядком, установленным системой менеджмента лаборатории.

11 Оформление результатов измерений

11.1 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности

Результат измерений, выдаваемый лабораторией, может быть представлен в виде

$$(\bar{X} \pm U(X)), \text{ мкг/кг}$$

при доверительной вероятности $P = 0,95$, $k=2$,

где $\bar{X}$ – результат измерений, мкг/кг, полученный в соответствии с настоящей методикой и рассчитанный согласно разделу 10;

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

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

$$U(X) = 0,01 \cdot U \cdot \bar{X}, \quad (8)$$

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

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

11.2 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы пенициллинов с использованием нижней границы диапазона измерений.

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается больше значения верхней границы диапазона измерений, то дается односторонняя оценка массовой

доли антибиотиков группы пенициллина в образце с использованием предела измерения, в мкг/кг

менее X_{LL} , мкг/кг,

где X_{LL} – значение нижней границы диапазона измерений, приведенное в разделе 3, мкг/кг.

11.3 Форма представления результатов измерений в виде односторонней оценки массовой доли антибиотиков группы пенициллинов с использованием верхней границы диапазона измерений

Если окончательный результат измерений $\bar{X}$ оказывается больше, чем значение верхней границы диапазона измерений, то дается односторонняя оценка массовой доли антибиотиков группы пенициллинов в образце в виде

более X_{HL} , мкг/кг,

где X_{HL} – значение верхней границы диапазона измерений, приведенное в разделе 3, мкг/кг.

12. Контроль точности результатов измерений

12.1 Периодичность контроля точности результатов измерений

Контроль точности измерений выполняется с периодичностью, установленной системой менеджмента лаборатории, при:

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

12.2 Контроль результатов, полученных в условиях повторяемости

Контроль повторяемости выполняется после измерения массовой доли антибиотиков группы пенициллинов при расчете окончательного результата измерений по результатам двух измерений параллельных проб в соответствии с п. 10.4.

12.3 Проверка приемлемости результатов, полученных в условиях промежуточной прецизионности

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами оператор-время, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5726–6 (ГОСТ Р ИСО 5725–6) следующим образом.

Лаборатория получает два результата измерений $\overline{X}_1$, $\overline{X}_2$, согласно разделу 9, варьируя факторы промежуточной прецизионности (оператор, время) и обеспечивая контроль повторяемости по п. 11.4. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение двух результатов $\overline{X}_1$, $\overline{X}_2$, мкг/кг, вычисляют по формуле:

$$\overline{\overline{X}} = \frac{\overline{X}_1 + \overline{X}_2}{2}, \quad (9)$$

при их соответствии условию

Критерием приемлемости является условие

$$|\overline{X}_1 - \overline{X}_2| \leq CD_{abs}, \quad (10)$$

где CD_{abs} – абсолютное значение критической разности, мкг/кг, рассчитываемое по формуле

$$CD_{abs} = 0,01 \cdot CD \cdot \overline{\overline{X}}, \quad (11)$$

где CD – относительное значение критической разности, приведенное в таблице 7, %.

При невыполнении условия (10) выявляют причины и принимают меры для устранения неудовлетворительного результата контроля, после чего повторно проводят измерения текущей серии образцов.

12.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Статистическую проверку совместимости результатов измерений массовой доли антибиотиков группы пенициллинов для двух лабораторий проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725–6 (ГОСТ Р ИСО 5725–6).

Каждая из двух лабораторий проводит измерения согласно разделу 9 и получает результат измерений $\overline{X}_1$, $\overline{X}_2$, рассчитанные по результатам измерений двух параллельных проб (двух единичных измерений) одного и того же образца, обеспечивая контроль повторяемости по п. 10.4.

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

$$\overline{\overline{X}} = \frac{\overline{X}_1 + \overline{X}_2}{2}, \quad (12)$$

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

$$|\overline{X}_1 - \overline{X}_2| \leq CD_R, \quad (13)$$

то оба конечных результата, полученные двумя лабораториями считаются приемлемыми и общее среднее значение $\bar{\bar{X}}$, рассчитанное по формуле (12), может быть использовано в качестве представленного результата.

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

$$CD_R = 0,01 \cdot k \cdot CD \cdot \bar{\bar{X}}, \quad (14)$$

где $\bar{\bar{X}}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений массовой доли антибиотиков группы пенициллинов двух лабораторий, мкг/кг;

k – коэффициент, равный 1,4;

CD – относительное значение критической разности, %, приведенное в таблице 7.

При превышении значения критической разности для разрешения различий между результатами, полученными двумя лабораториями, используют процедуры, указанные в разделе 5 СТБ ИСО 5726–6.

Таблица 7 – Относительные значения предела повторяемости, критической разности и норматива контроля правильности

Виды продукции	Предел Повторяемости r , %	Критическая разность CD , %	Норматив контроля правильности $K_{отп}$, %
1	2	3	4
Молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, напитки и коктейли на молочной основе (в том числе йогуртные), молочные смеси, восстановленные сухие молочные смеси для детского питания, восстановленное сухое молоко	19	26	28
Десерты на молочной основе, мороженое на молочной основе, каши молочные готовые к употреблению, каши сухие молочные восстановленные, творог и продукты на его основе (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста, крема творожные и подобные продукты с наполнителями и без), творожный сыр, кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран, йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин и подобные продукты с наполнителями и без), сметана,			

Виды продукции	Предел Повторяемости r , %	Критическая разность CD , %	Норматив контроля правильности $K_{отн}$, %
1	2	3	4
пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка, напитки на основе молочной сыворотки, восстановленный пермеат	19	26	28
Масло сливочное, молочный жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко			
Сыр, сырные продукты и сырные пасты, изделия кулинарные сырные			
Мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, в том числе для детского питания, жиры животные, сало, в том числе шпик, и пищевая продукция их содержащая, мясо птицы, готовые к употреблению продукты из мяса птицы, полуфабрикаты, консервы из мяса птицы, в том числе для детского питания, рыба, переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в том числе для детского питания (кулинарные изделия из полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки	19	26	28
Яйца, яйцепродукты и продукты переработки яиц (в том числе яичный порошок, яичная масса, меланж)			
Субпродукты (в том числе птичьи) и продукты их переработки			
Масло сливочное, молочный жир, сливочно-растительный спред, сгущенное молоко			

12.5 Контроль правильности

12.5.1 Образцы для контроля правильности

Контроль правильности производят путем измерения массовой доли пенициллина G в образцах для контроля (ОК) с заранее известным значением массовой доли аналита. Контроль правильности проводится с использованием добавок пенициллина G, а также естественно или искусственно контаминированных образцов с приписанными значениями массовой доли пенициллина G (например, матричные стандартные образцы). Неопределенность приписанного значения массовой доли пенициллина G в ОК не должна превышать одной трети от значения неопределенности результата измерений.

При использовании добавок ОК представляют собой навеску пробы образца, не содержащего антибиотиков группы пенициллинов, в которую внесена добавка раствора пенициллина. Используемые при этом образцы до внесения добавки должны быть предварительно гомогенизированы до однородного состояния и сохранять однородность состава и консистенции в течение всего предполагаемого срока хранения.

Оценки массовых долей пенициллина G в подготовленных таким образом образцах без добавки должны быть не более значения, соответствующего градуировочному раствору с массовой концентрацией пенициллина G 0,08 нг/см³. Требуемые значения оценок массовой доли в образцах рассчитывают по формуле (5) на основании полученных согласно разделу 9 результатов измерений двух параллельных проб каждого такого образца без проведения контроля повторяемости по п. 10.4. Допускается получение вышеуказанных значений оценок в образцах без добавки с помощью другой аттестованной (стандартизированной) методики, имеющей соответствующий предел измерения (обнаружения). В качестве образцов, в которые вносят добавки, могут быть также использованы контрольные (референсные) образцы, свойства которых, в том числе приписанное производителем значение массовой доли пенициллина, соответствуют указанным выше условиям.

Для внесения добавки используется раствор, приготовленный из бензилпенициллина (пенициллина G) калиевой или натриевой соли в соответствии с прилагаемой инструкцией. Допускается использовать для внесения добавок готовые spike-препараты при условии, что относительная стандартная неопределенность массовой доли пенициллина G в них не превышает 3 %.

Добавка вносится непосредственно в пробирки с навесками (аликвотами) проб. Приписанное значение массовой доли пенициллина G в пробе с добавкой X_{am} , мкг/кг, в пробе с добавкой рассчитывается по формуле

$$X_{am} = \frac{C_{ST} \cdot V_{ST}}{m}, \quad (15)$$

где C_{ST} – концентрация раствора пенициллина G, нг/см³;

V_{ST} – объем добавленного раствора пенициллина G, см³;

m – масса навески пробы, г.

Приписанное значение массовой доли пенициллина G в пробе с добавкой должно находиться в пределах от 35 % до 100 % верхней границы диапазона измерений.

12.5.2 Проведение контрольной процедуры

При проведении контрольной процедуры получают два результата измерений параллельных проб ОК в соответствии с требованиями раздела 9.

За результат контрольного измерения $\overline{X}_k$, мкг/кг, принимают результат измерения массовой доли пенициллина G в ОК, рассчитанный по формуле (5), при выполнении условия повторяемости по п. 10.4. Должно выполняться условие

$$|\overline{X}_k - X_{am}| \leq 0,01 \cdot K_{отн} \cdot \overline{X}_{am}, \quad (16)$$

где $K_{отн}$ – относительный норматив контроля правильности, %, приведенный в таблице 7;

X_{am} – приписанное значение массовой доли пенициллина в ОК, мкг/кг.

При невыполнении данного условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (16) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

12.6 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 [6] и СТБ ИСО 5725–6 (ГОСТ Р ИСО 5725–6), раздел 6.

Для проверки стабильности соответствия результатов испытаний показателям повторяемости, установленным дайной методикой, применяются КК с заданными стандартными значениями. В этом случае для построения КК используют показатели повторяемости согласно разделу 3.

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 пенициллина, приготовленного из калиевой или натриевой соли бензилпенициллина в соответствии с прилагаемой к ней инструкцией. Допускается использовать для внесения добавок готовые spike-препараты при условии, что относительная стандартная неопределенность добавленной массовой доли пенициллина G не превышает 3%.

Предварительно установленная массовая доля пенициллина в данных пробах без добавки должна быть менее нижней границы измерений методики. Рекомендуется вносить добавку пенициллина в образцы для контроля на уровне значения массовой доли в рабочих пробах, ограничивая её пределами от 35% до 100% верхней границы диапазона измерений методики.

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

Рассчитываются значение центрально линии CL , границ регулирования UCL_1 , % и предупреждающих границ UCL_2 , %, по формулам:

$$CL = d_2 \cdot \sigma_r = 1,128 \cdot \sigma_r, \quad (17)$$

$$UCL_1 = D_2^1 \cdot \sigma_r = 2,834 \cdot \sigma_r, \quad (18)$$

$$UCL_2 = D_2 \cdot \sigma_r = 3,686 \cdot \sigma_r, \quad (19)$$

где d_2 – коэффициент, равный 1,128;

σ_r – относительное СКО повторяемости, %, приведенное в таблице 1;

D_2^1 , D_2 – коэффициенты, равные 2,834 и 3,686 соответственно.

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 измерений ОК в условиях повторяемости в полном соответствии с методикой, расчет фактических относительных значений размаха W , %, по формуле (20), оформление Листа данных КК и нанесение данных на КК.

$$W = \frac{200 \cdot |X_1 - X_2|}{X_1 + X_2}, \quad (20)$$

где X_1 , X_2 – значения результатов измерений в условиях повторяемости, мкг/кг.

Интерпретация данных КК осуществляется в соответствии с [6].

Оценку СКО повторяемости S_r за контролируемый период вычисляют по формуле

$$S_r = \frac{\sum_{i=1}^N W_i / N}{d_2}, \quad (21)$$

где N – общее количество измерений (точек) на КК, для получения значений центрально линии и границ необходимо, чтобы $N=15...20$;

d_2 – коэффициент, равный 1,128.

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

Рассчитывают значения центральной линии $\overline{Rec}$, % по формуле

$$\overline{Rec} = \frac{\sum_{i=1}^N Rec_i}{N}, \quad (22)$$

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

Rec_i – значение извлечения (Recovery)%, рассчитываемое по результатам i -го измерения пробы с добавкой пенициллина G, по формуле

$$Rec_i = \frac{x_i}{x_{exp}} \cdot 100, \quad (23)$$

где X_i – массовая доля пенициллина G в пробе с добавкой, полученная при i -ом измерении, мкг/кг;

X_{exp} – рассчитанное значение массовой доли пенициллина G в пробе с добавкой, мкг/кг.

Рассчитывают значение верхней предупреждающей границы UCL_1 , %, и нижней предупреждающей границы LCL_1 , %, по формулам

$$UCL_1 = \overline{Rec} + 2 \cdot S_{REC}, \quad (24)$$

$$LCL_1 = \overline{Rec} - 2 \cdot S_{REC}. \quad (25)$$

Рассчитывают значение верхней границы регулирования UCL_2 , %, и нижней границы регулирования LCL_2 , %, по формулам

$$UCL_2 = \overline{Rec} + 3 \cdot S_{REC}, \quad (26)$$

$$LCL_2 = \overline{Rec} - 3 \cdot S_{REC}, \quad (27)$$

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

$$S_{REC} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\overline{Rec} - Rec_i)^2}{N-1}}. \quad (28)$$

Графическое построение КК состоит в нанесении на выбранную шкалу центральной линии и контрольных границ.

Ведение КК предусматривает набор данных единичных измерений X_i при выполнении измерений ОК в соответствии с методикой, расчет фактических значений коэффициента извлечения Rec_i , по формуле (23), оформление Листа данных КК и нанесение данных на КК.

Интерпретации данных КК осуществляется в соответствии с [6].

Приложение А (справочное)

Метрологические характеристики дозаторов пипеточных и секундомера

Таблица А.1 – Метрологические характеристики дозаторов пипеточных

Диапазон показаний объемов дозирования, мм ³	Номинальный объем дозы, мм ³	Пределы допускаемого относительного отклонения среднего арифметического значения фактического объема дозы от номинального, %	Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения фактического объема дозы при доверительной вероятности P=0,95, %	Дискретность установки объема дозы, мм ³
Дозатор механический Acura manual (модификация 825)				
от 20 до 200	20,0	± 2,0	3,0	0,2
	100,0	± 1,5	2,0	
	200,0	± 1,5	2,0	
от 100 до 1000	100	± 1,5	2,0	1
	500	± 1,1	1,0	
	1000	± 1,0	1,0	
Дозатор механический Acura manual (модификация 835)				
от 500 до 5000	500	± 2,0	1,0	10
	2500	± 1,1	1,0	
	5000	± 1,0	1,0	
Дозатор механический Acura manual (модификация 855)				
от 40,0 до 350,0	40,0	± 2,0	3,0	0,4
	175,0	± 1,5	2,0	
	350,0	± 1,5	2,0	

Таблица А.2 – Метрологические характеристики секундомера электронного «Интеграл С-02»

Наименование метрологической характеристики	Значение
Дискретность отсчета интервалов времени в режиме секундомер, с	0,01
Номинальное значение частоты кварцевого генератора, Гц	32768
Пределы допускаемой основной абсолютной погрешности измерений в режиме секундомера в нормальных условиях эксплуатации (25 ± 5) °С, с Где T_x – значение измеренного интервала времени, с	$\pm(9,6 \cdot 10^{-6} \cdot T_x + 0,01)$
Пределы допускаемой дополнительной абсолютной погрешности измерения в режиме секундомера, вызванной отклонением температуры окружающего воздуха от нормальных условий (25 ± 5) °С в интервале рабочих температура от минус 10 °С до 50 °С на 1 °С с изменением температуры, с	$2,2 \cdot 10^{-6} \cdot T_x$

Приложение Б (справочное)

Состав и перекрестная реактивность набора реагентов «ALMUNO Penicillin»

Таблица Б.1 – Состав набора реагентов «ALMUNO Penicillin»

Компонент набора	Количество в комплекте
Иммуносорбент (разборный микротитровальный планшет с иммобилизированным пенициллином G)	1 шт. (12 стрипов по 8 лунок)
Пустые флаконы для приготовления градуировочных растворов пенициллина	8 шт.
Основной стандарт пенициллина G (1000 нг)	2 шт.
Спайк-препарат пенициллина G (1000 нг)	1 шт.
Концентрат ПСБ (50х)	$1 \times 0,3 \text{ см}^3$
Буфер для разведения ПСБ	$1 \times 15 \text{ см}^3$
Конъюгат	$1 \times 16 \text{ см}^3$
Концентрат экстракционного буфера (10х)	$1 \times 100 \text{ см}^3$
Концентрат промывочного раствора (20х)	$1 \times 30 \text{ см}^3$
Стоп-реагент	$1 \times 12 \text{ см}^3$
ТМБ-субстрат	$1 \times 12 \text{ см}^3$

Таблица Б.2 – Перекрестная реактивность набора реагентов «ALMUNO Penicillin»

Антибиотик	Перекрестная реактивность, %
Бензилпенициллин (пенициллин G)	100
Ампициллин	100
Пенициллин V	67
Диклоксациллин	63
Оксациллин	37
Амоксициллин	22
Нафциллин	10
Цефкином	2,52
Цефазолин	0,87
Цефтиофур	0,42
Цефотаксим	0,09

Библиография

- [1] Руководство Еврахим «Пригодность для использования аналитических методов. Руководство для лабораторий по валидации методов и сопутствующим вопросам», второе издание, 2014
- [2] 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 (Проект VAM 3.2.1 Развитие и гармонизация принципов неопределенности измерений. Часть (d): Протокол для оценки неопределенности по данным валидации)
- [3] Отчет об экспериментальных исследованиях рабочих характеристик методики измерений «Массовая доля антибиотиков группы пенициллинов в пищевой продукции. Методика измерений методом ИФА с использованием набора реагентов «ALMUNO Penicillin»
- [4] ТУ ВУ 193208315.112 – 2024 «Набор реагентов «ALMUNO Penicillin» для определения содержания антибиотиков пенициллиновой группы в продуктах питания и продовольственном сырье методом ИФА»
- [5] Инструкция по применению «Набор реагентов «ALMUNO Penicillin» для определения содержания антибиотиков группы пенициллинов в продуктах питания и продовольственном сырье методом ИФА»
- [6] ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта.