Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Количественное определение остаточных количеств пенициллинов в пищевой продукции животного происхождения методом конкурентного иммуноферментного анализа

Методические указания
МУК 4.1.3683—20

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

ББК 51.23
К60

К60 **Количественное** определение остаточных количеств пенициллинов в пищевой продукции животного происхождения методом конкурентного иммуноферментного анализа: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022.—28 с.

ISBN 978–5–7508–1968–3

1. Разработаны ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (В. А. Тутельян, Д. Б. Никитюк, С. А. Хотимченко, С. А. Шевелева, Л. П. Минаева, В. В. Бессонов, А. Д. Малинкин, А. В. Галкин), ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» Роспотребнадзора (Л. И. Иванова, А. Ю. Полторацкий).
2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 25 декабря 2020 г.
3. Ввведены впервые.

Свидетельство об аттестации № 0102/РОСС RU.0001.310430/2021 от 05.02.2021, номер в реестре аттестованных методик ФР.1.31.2021.39622

ББК 51.23

Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 14.12.2021

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,75

Тираж 100 экз. Заказ 85

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19А (https://fcgie.ru)

Реализация печатных изданий и полиграфической продукции,
тел./факс: 8 (495) 633-18-17; print_zakaz@fcgie.ru

© Роспотребнадзор, 2022

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
25 декабря 2020 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Количественное определение остаточных количеств пенициллинов в пищевой продукции животного происхождения методом конкурентного иммуноферментного анализа

Методические указания
МУК 4.1.3683—20

I. Область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее – МУК) распространяются на продовольственное (пищевое) сырье и пищевую продукцию животного происхождения: молоко (сырое, питьевое, сухое, сгущенное), сливки, молочные смеси для детей (сухие), йогурт, кефир, сметану, сыворотку сухую и напитки на основе сыворотки, творог и творожные продукты (творог зернёный, творожная масса), сыры (молодой и зрелый), масло из коровьего молока, спред, мясо (говядина, свинина, курица, индейка), мясные субпродукты (печень, почки, жир), рыба (лососевые) и креветки.

МУК устанавливают порядок применения методики количественного определения остаточных количеств пенициллинов методом твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа с фотометрической детекцией (при 450 нм) (далее – ИФА) в соответствии с диапазонами определяемых концентраций и метрологическими характеристиками.

1.2. МУК предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также могут быть ис-

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

пользованы организациями, аккредитованными в установленном порядке на проведение исследований продовольственного сырья, пищевых продуктов.

1.3. МУК носят рекомендательный характер.

II. Метод измерений

2.1. Метод ИФА основан на реакции «антиген – антитело». Лунки микротитровального планшета покрыты антителами захвата к антителам на ампициллин (вещество стандарта). В лунки дозируют растворы стандартов или проб, антитела к ампициллину и конъюгат ампициллина. Свободный ампициллин и ампициллин из ферментного конъюгата конкурируют за места связывания антител (конкурентный иммуноферментный анализ). Антитела к ампициллину связываются иммобилизированными антителами захвата. Все несвязанные молекулы конъюгата удаляются на этапе отмывки. В лунки вносят раствор субстрат/хромогена и инкубируют. Связанные молекулы конъюгата преобразуют хромоген в окрашенные в синий продукты реакции. Внесение стоп-раствора ведет к изменению окраски от синего к желтому. Измерение выполняют фотометрически при 450 нм. Оптическая плотность обратно пропорциональна концентрации ампициллина в пробе.

III. Метрологические характеристики

3.1. При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и её составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P = 0,95 не превышает значений, приведенных в табл. 3.1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Метрологические параметры установлены при проведении количественного определения с тест-набором, указанным в главе IV. Допускается использование метода для тест-наборов с аналогичными или лучшими характеристиками при наличии установленных метрологических параметров.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Таблица 3.1

Значения характеристики погрешности, нормативов оперативного контроля точности, повторяемости, воспроизводимости, полнота извлечения пенициллинов[1]

Анализируемый объект	Диапазон измеряемых концентраций, мг/кг(мг/дм^3)	Показатель точности (границы относительной погрешности), ±δ, % $P = 0,95$	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости) σR, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %, ($P = 0,95$)	Средняя полнота извлечения вещества, %
1	2	3	4	5	6	7	8
Молоко сырое и питьевое	0,0003—0,0100	64	6,4	9,0	18	25	81
Молоко сгущенное	0,0010—0,0300	57	4,2	5,9	12	16	118
Молочные смеси для детей сухие	0,0028—0,0900	50	6,4	9,0	18	25	88,7
Молоко сухое	0,0023—0,0700	48	6,1	8,5	17	24	109
Йогурт	0,0025—0,0800	47	8,5	11,9	24	33	100
Кефир	0,0020—0,0600	67	6	8,4	17	24	126
Сыворотка сухая	0,0013—0,0400	46	7,3	10,2	20	29	94
Напитки на основе сыворотки	0,0013—0,0400	42	3,4	4,8	10	13	96
Сливки	0,0024—0,0800	46	6,4	9	18	25	104,9
Сыр молодой[2]	0,0022—0,0700	50	3,4	4,8	10	13	113

[1] Пример метрологических характеристик при использовании тест-набора «Penicillin ELISA (5091PEN)».
[2] Мягкие и свежие сыры с высоким содержанием влаги (с выдержкой до 1 месяца).

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Продолжение табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8
Сыр зрелый [3]	0,0021—0,0700	51	5,6	7,8	16	22	118,4
Сметана (м.д.ж. ≤ 20 %)	0,0023—0,0700	49	5,4	7,6	15	21	108
Сметана (м.д.ж. > 20 %)	0,0023—0,0700	46	4,4	6,2	12	17	107,6
Творог зернёный	0,0024—0,0800	48	8,7	12,2	24	34	102,6
Творог	0,0025—0,0800	42	3,7	5,2	10	15	100,1
Творожная масса (м.д.ж. от 18 %)	0,0026—0,0800	43	2,3	3,2	6	9	94,9
Масло из коровьего молока	0,0019—0,0600	81	5,5	7,7	15	22	130
Спред	0,0021—0,0700	63	5,3	7,4	15	21	120
Печень птицы	0,0066—0,2100	66	2,9	4,1	8	11	76,1
Печень свиная	0,0056—0,1800	50	5,7	8,0	16	22	89,2
Почки ягненка	0,006—0,1900	50	4,4	6,2	12	17	84
Говяжий жир	0,0029—0,0900	52	5,6	7,8	16	22	87
Свиной жир	0,0028—0,0900	46	2,5	3,5	7	10	90,2
Рыба (лососевые)	0,0041—0,1300	63	6,7	9,4	19	26	123
Креветки	0,0062—0,2000	57	3,4	4,8	10	13	80.5
Свинина	0,0053—0,1700	43	3,7	5,2	10	15	95,7
Говядина	0,0046—0,1500	46	3,8	5,3	11	15	109,2
Мясо кур	0,0061—0,2000	58	4,7	6,6	13	18	81,9
Мясо индейки	0,0056—0,1800	54	3,7	5,2	10	15	85

[3] Полутвёрдые, твёрдые и сверхтвёрдые сыры (с выдержкой более 4 месяцев).

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

IV. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. При выполнении измерений и подготовке проб применяют средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы, приведенные в табл. 4.1—4.3.

Таблица 4.1

Средства измерений

Наименование средств измерения	Обозначение и наименование документов, технические характеристики
1	2
Автоматические пипеточные дозаторы одноканальные с переменными объемами от 0,005 до 0,050 см^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования не более ±(5,0÷2)%, с одноразовыми наконечниками	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений
Автоматические пипеточные дозаторы одноканальные с переменными объемами от 0,02 до 0,2 см^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования не более ±(2,0÷1,5)%, с одноразовыми наконечниками	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений
Автоматические пипеточные дозаторы одноканальные с переменными объемами от 0,1 до 1 см^3 с относительной погрешностью дозирования не более ±(1,5÷1,0) %, с одноразовыми наконечниками	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений
Автоматические пипеточные дозаторы одноканальные с переменными объемами от 1 до 5 см^3 с относительной погрешностью дозирования не более ±1 %, с одноразовыми наконечниками	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений
Автоматические пипеточные дозаторы 8-канальные с переменным объемом 0,05—0,3 см^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования не более ±(2,0÷1,5)%, с одноразовыми наконечниками	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений
Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности, погрешность взвешивания 0,01 г	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Продолжение табл. 4.1

1	2
Фотометр вертикального типа – планшетный иммуноферментный анализатор с диапазоном линейности измерения оптической плотности 0—2,5 и длиной волны 450 нм	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений
Компьютер с программным обеспечением для обработки результатов ИФА	–
pH-метр или анализатор потенциометрический, погрешность измерений pH не более ±0,01	Внесено в реестр «Утверждённые типы средств измерений» Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений
Цилиндры мерные вместимостью 50, 100, 250 см^3	ГОСТ 1770
Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 100 см^3	ГОСТ 1770
Пипетки (с делениями) 2-го класса точности объемом 1, 2, 5 и 10 см^3	ГОСТ 29227 (ИСО 835-1)

Примечание. Допускается использование других средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

Таблица 4.2

Вспомогательные устройства, посуда и материалы

Наименование вспомогательного оборудования, устройств, материалов	Обозначение и наименование документов, технические характеристики
1	2
Баня водяная лабораторная с терморегулятором, обеспечивающая нагрев не менее (40 ± 1) °С	–
Бумага фильтровальная	ГОСТ 12026
Гомогенизатор для восстановления жидких продуктов или миксер	–
Гомогенизатор перистальтического типа со стерильными пластиковыми пакетами (или других видов) или фарфоровые ступки с пестиками	–
Колбы конические на 50 и 100 см^3	ГОСТ 23932
Наконечники для автоматических пипеток вместимостью 0,050; 0,300; 1,000; 5,000 см^3 однократного применения	–
Пробирки полипропиленовые центрифужные с завинчивающимися крышками вместимостью 15 см^3	–

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Продолжение табл. 4.2

1	2
Пробирки полипропиленовые центрифужные с завинчивающимися крышками вместимостью 50 см^3	–
Пробирки полипропиленовые по типу «Эппендорф» вместимостью 1,5—2,0 см^3	–
Стаканы химические вместимостью 25, 50, 100 см^3	ГОСТ 25336
Устройство для отмывки иммунологических планшетов автоматическое с диапазоном объемов моющего раствора, заливаемого в каждую микрокювету, от 0,1 см^3 до 0,350 см^3 (при наличии)	–
Холодильник бытовой электрический	–
Центрифуга настольная с устанавливаемым относительным центробежным ускорением (ОЦУ/RFS)[4] до 4 000 g и возможностью охлаждения или без охлаждения	–
Центрифуга настольная с устанавливаемым относительным центробежным ускорением (ОЦУ/RFS) до 20 000 g	–
Шейкер для пробирок вортексного типа со вставкой для одной пробирки и диапазоном скорости от 100 об./мин	–
Шейкер переворачивающего вертикального вращения на 360° в одной плоскости с адаптером для пробирок и диапазоном скорости до 100 об./мин	–
Шкаф (стол) лабораторный	–
Шпатели или палочки стеклянные	–

Примечание. Допускается использование других вспомогательных устройств, посуды и материалов с аналогичными или лучшими характеристиками.

Таблица 4.3

Реактивы

Наименование реактивов	Обозначение и наименование документов, технические характеристики
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709
н-Гексан	Содержание основного компонента не менее 99,85 %

Примечание. Допускается применение других химических реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

4.2. Количественное определение пенициллинов по технологии ИФА проводят с тест-набором с внутренним стандартом, рассчитанным на проведение анализа 41 исследуемого образца и 6 калибровочных проб (в 2 повторностях), в составе (табл. 4.4).

[4] Пересчет относительного центробежного ускорения (в единицах g) (ОЦУ/RFS) в скорость центрифугирования (об./мин) приведен в приложении к настоящим МУК.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Таблица 4.4

Пример состава тест-набора[5]

Наименование компонентов набора	Обозначение и наименование документов, технические характеристики
1. Микротитровальный планшет на 96 лунок (12 стрипов с 8 отделяемыми лунками каждый), сенсибилизированных антителами «захвата», в упаковке из фольги в комплекте с влагопоглотителем	Инструкция к набору
2. Стандарт в лиофилизированном виде (0,004 мкг/см^3) – 3 шт.	Инструкция к набору
3. Конъюгат (концентрат (×100)) – 0,1 см^3	Инструкция к набору
4. Антитела (концентрат (×100)) – 0,1 см^3	Инструкция к набору
5. Субстрат/хромоген – 12 см^3	Инструкция к набору
6. Готовая смесь субстрата с хромогеном (содержит пероксид карбамида и тетраметилбензидин) – 12 см^3)	Инструкция к набору
7. Стоп-реагент (содержит 1 н серную кислоту) – 15 см^3)	Инструкция к набору
8. Буфер для разбавления стандартных растворов, конъюгата, антител, образцов (концентрат (×4)) – 25 см^3	Инструкция к набору
9. Моющий буфер (концентрат (×20)) – 30 см^3	Инструкция к набору

Пример специфичности методики определения пенициллинов, установленной по перекрестной чувствительности к исследованным антибиотикам в буферной системе с тест-набором, представлен в табл. 4.5.

Таблица 4.5

Пример специфичности тест-набора[6]

Вещество	Специфичность, %
Ампициллин (вещество стандарта)	100
Пенициллин G	100
Азлоциллин	99
Пиперациллин	88
Амоксициллин	85
Пенициллин V	58
Оксациллин	40
Клоксациллин	30
Диклоксациллин	15
Нафциллин	3
Цефалоспориновые антибиотики	< 1

[5] Тест-набор «Penicillin ELISA (5091PEN)».
[6] Тест-набор «Penicillin ELISA (5091PEN)».

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

V. Требования безопасности

5.1. Исследования пищевых продуктов с использованием методики ИФА проводят с соблюдением требований техники безопасности, установленных для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами в соответствии с ГОСТ 12.1.007.

5.2. Проведение исследований допускается только в подготовленном лабораторном помещении.

5.3. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, отвечать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

5.4. При выполнении измерений с использованием планшетного иммуноферментного анализатора и работе с электроустановками необходимо соблюдать правила электробезопасности в соответствии ГОСТ 12.1.019 и инструкцию по эксплуатации прибора.

5.5. При работе с тест-набором необходимо соблюдать следующие требования безопасности:

– стоп-реагент содержит 0,5 М серной кислоты. Не допускается попадание реагента на кожу;

– раствор субстрат/хромоген токсичен при вдыхании, контакте с кожей и проглатывании. При обращении необходимо соблюдать меры предосторожности;

– необходимо избегать контакта всех реагентов с кожей и слизистыми оболочками;

– при дозировании реагентов допускается использовать только указанные инструменты.

VI. Требования к квалификации операторов

6.1. К выполнению измерений и обработке их результатов допускают лиц с высшим или средним специальным образованием, прошедших соответствующую подготовку и имеющих навыки работы в области иммуноферментного анализа. К проведению анализа допускается только персонал, ознакомленный с руководством по эксплуатации планшетного иммуноферментного анализатора и освоивший данную методику.

VII. Отбор проб

7.1. Отбор проб осуществляют в соответствии с методическим документом[7].

---

[7] МУК 4.1.3534—18 «Подготовка проб для проведения исследований по определению остаточных количеств антибиотиков и антимикробных препаратов».

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

7.2. Пробы исследуемых продуктов хранят в соответствии с рекомендациями изготовителя, указанными на этикетке или в сопроводительной документации.

7.3. Хранение и транспортирование экстрактов, подготовленных для ИФА.

Готовые экстракты допускается хранить до начала анализа в пределах одной лаборатории при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С не более 1 суток.

Допускается транспортирование материала при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С в течение 1 суток. Доставленные в лабораторию образцы в виде экстрактов хранению не подлежат и сразу направляются на анализ.

VIII. Условия проведения измерений

8.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

– температура окружающего воздуха от плюс 20 до плюс 30 °С;

– относительная влажность воздуха не более 80 %.

IX. Подготовка к выполнению измерений

9.1. Подготовка стеклянной посуды.

При подготовке к проведению исследований лабораторную стеклянную посуду моют смесью водного раствора бихромата калия с концентрированной серной кислотой, многократно промывают водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

9.2. Подготовка оборудования.

Подготовку и проверку фотометра, pH-метра и другого необходимого оборудования проводят в соответствии с руководствами по эксплуатации приборов.

9.3. Хранение и использование наборов и реагентов.

Тест-наборы для ИФА хранят при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С, не допуская подмораживания компонентов. Использовать набор допускается только в пределах срока годности.

При подготовке к анализу ИФА, использовании и хранении тест-набора при необходимости дополнительно руководствоваться инструкцией к тест-набору.

9.4. Приготовление растворов.

9.4.1. Приготовление буфера для разбавления.

Разбавить концентрат буфера для разбавления стандартных растворов, конъюгата, антител, проб, имеющийся в комплекте, в соотношении 1 : 4 (1 + 3) дистиллированной водой (например, 10 см^3 концентрата + 30

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

см^3 дистиллированной воды). Готовый буфер для разбавления стандартов, проб, антител и конъюгата может храниться от плюс 2 до плюс 8 °С до в пределах срока годности, указанного на концентрате.

9.4.2. Приготовление моющего буфера.

Разбавить концентрат моющего буфера в соотношении 1 : 20 (1 + 19) дистиллированной водой (например, 2 см^3 концентрата + 38 см^3 дистиллированной воды; достаточно для 4 микротитровальных стрипов, т. е. 32 лунок). Разбавленный буфер может храниться от плюс 2 до плюс 8 °С в пределах срока годности, указанного на концентрате.

Примечание. При приготовлении разведений необходимо учитывать следующее: соотношение 1 : 10 означает, что 1 часть вещества (экстракта, концентрата) содержится в 10 частях готового раствора, то есть к 1 части вещества (экстракта, концентрата) прибавляется 9 частей растворителя, в соответствии с инструкцией производителя тест-набора.

Принимается допущение, что плотность буферных и других растворов (солей, кислот и щелочей), экстрактов, используемых в приведенных методиках, а также 10%-ных растворов (суспензий) продуктов приравнивается к плотности воды, исходя из чего при приготовлении последующих разведений учитывать, что массовые (м/м) и объемные (о/о) проценты принимаются равными.

9.5. Подготовка проб продуктов.

9.5.1. Молоко с содержанием жира < 1,5 %.

Пробу исследуемого жидкого продукта перемешивают на вортексе в течение 3 с, разбавляют в соотношении 1 : 2 (1 + 1) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 1 см^3 молока и 1 см^3 буфера для разбавления проб), перемешивают на вортексе в течение 3 с.

Для анализа используют 0,05 см^3 подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 2.

9.5.2. Молоко с содержанием жира > 1,5 %.

Пробу исследуемого жидкого продукта центрифугируют в течение 5 мин при 2 000 g и температуре не выше 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры не выше 4 °С).

Образовавшийся верхний слой жира удаляют с помощью шпателя или стеклянной палочки, обезжиренный супернатант отбирают в пустую пробирку. Обезжиренный супернатант разбавляют в соотношении 1 : 2 (1 + 1) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 1 см^3 молока и 1 см^3 буфера для разбавления проб), перемешивают на вортексе в течение 3 с.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Для анализа используют 0,05 см^3 подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 2.

9.5.3. Молоко сухое, молочные смеси для детского питания сухие.

Навеску исследуемого сухого продукта массой 1 г суспендируют в 9 см^3 дистиллированной воды и перемешивают на вортексе до полного растворения.

Пробу исследуемого продукта центрифугируют в течение 5 мин при 2 000 g и температуре не выше плюс 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры не выше 4 °С).

Образовавшийся верхний слой жира удаляют с помощью шпателя или стеклянной палочки, обезжиренный супернатант отбирают в пустую пробирку.

Обезжиренный супернатант разбавляют в соотношении 1 : 2 (1 + 1) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 1 см^3 супернатанта и 1 см^3 буфера для разбавления проб), перемешивают на вортексе в течение 3 с.

Для анализа используют 0,05 см^3 подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата (в пересчете на сухой продукт) учитывают фактор разбавления – 20.

Пересчет содержания антибиотика в восстановленном продукте проводят в соответствии с информацией на упаковке по приготовлению восстановленной смеси.

9.5.4. Сыворотка сухая.

Навеску исследуемого сухого продукта массой 1 г суспендируют в 9 см^3 дистиллированной воды и перемешивают на вортексе не менее 3 секунд до полного растворения.

Для анализа используют 0,05 см^3 подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата (в пересчете на сухой продукт) учитывают фактор разбавления – 10.

9.5.5. Молоко сгущенное, напитки на основе сыворотки.

Пробу исследуемого продукта массой 1 г вносят в центрифужную пробирку объёмом 15 см^3, приливают 4 см^3 буфера для разбавления проб (п. 9.4.1), перемешивают на вортексе до полного растворения.

Полученную суспензию центрифугируют в течение 5 мин при 2 000 g и температуре не выше плюс 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры не выше плюс 4 °С).

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Образовавшийся верхний слой жира удаляют с помощью шпателя или стеклянной палочки, обезжиренный супернатант отбирают в пустую пробирку.

Обезжиренный супернатант разбавляют в соотношении 1 : 2 (1 + 1) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 1 $см^3$ супернатанта и 1 $см^3$ буфера для разбавления проб), перемешивают на вортексе в течение 3 секунд.

Далее используют 0,05 $см^3$ подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 10.

9.5.6. Сливки, кисломолочные продукты: йогурт, кефир, творог и творожные продукты, сметана (разной жирности).

К пробе исследуемого продукта массой 5 г добавляют 20 $см^3$ дистиллированной воды, гомогенизируют полностью на вортексе или в гомогенизаторе.

Центрифугируют 10 мин при 4 000 g при температуре не выше плюс 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры не выше плюс 4 °С).

Образовавшийся верхний слой жира удаляют с помощью шпателя или стеклянной палочки, обезжиренный супернатант отбирают в пустую пробирку.

Обезжиренный супернатант разбавляют 1 : 4 (1 + 3) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 0,5 $см^3$ нижней водной фазы и 1,5 $см^3$ буфера для разбавления проб).

Для анализа используют 0,05 $см^3$ подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 20.

9.5.7. Масло из коровьего молока, спреды сливочно-растительные.

Навеску исследуемого продукта массой 5,0 г вносят в центрифужную пробирку объёмом 50 $см^3$, приливают 20 $см^3$ дистиллированной воды и инкубируют при 40 °С на водяной бане до полного расплавления, после чего гомогенизируют с помощью вортекса.

Центрифугируют 10 мин при 4 000 g при температуре не выше плюс 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры не выше плюс 4 °С).

Образовавшийся верхний слой жира удаляют с помощью шпателя или стеклянной палочки, нижнюю фазу отбирают в пустую пробирку.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Нижнюю фазу разбавляют в соотношении 1 : 4 (1 + 3) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 0,5 $см^3$ нижней водной фазы и 1,5 $см^3$ буфера для разбавления проб).

Для анализа используют 0,05 $см^3$ подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 20.

9.5.8. Сыр молодой.

Навеску исследуемого продукта массой 5 г вносят в центрифужную пробирку объёмом 50 $см^3$, приливают 20 $см^3$ дистиллированной воды и тщательно гомогенизируют в гомогенизаторе или вручную в фарфоровой ступке.

Центрифугируют 10 мин при 4 000 g при температуре не выше плюс 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры не выше плюс 4 °С).

Образовавшийся верхний слой жира удаляют с помощью шпателя или стеклянной палочки, надосадочную водную фазу отбирают в пустую пробирку.

Надосадочную водную фазу разбавляют в соотношении 1 : 4 (1 + 3) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 0,5 $см^3$ нижней водной фазы и 1,5 $см^3$ буфера для разбавления проб).

Для анализа используют 0,05 $см^3$ подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 20.

9.5.9. Сыр зрелый.

Полностью гомогенизируют всё количество представительной пробы в гомогенизаторе или вручную в фарфоровой ступке.

Навеску гомогенизированной пробы массой 1 г вносят в центрифужную пробирку объёмом 15 $см^3$, приливают 4 $см^3$ дистиллированной воды и 2 $см^3$ гексана, пробирку плотно закрывают, после чего тщательно перемешивают на вортексе, а затем перемешивают встряхиванием в течение 15 мин, используя встряхиватель с вертикальным вращением (переворотом).

Центрифугируют 10 мин при 4 000 g при температуре не выше плюс 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры не выше плюс 4 °С). Нижнюю водную фазу отбирают в пустую пробирку.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Нижнюю водную фазу разбавляют в соотношении 1 : 4 (1 + 3) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 0,5 $см^3$ нижней водной фазы и 1,5 $см^3$ буфера для разбавления проб).

Для анализа используют 0,05 $см^3$ подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 20.

Примечание. При проведении пробоподготовки с использованием гексана для исключения ложноположительных результатов необходимо использовать отрицательный контроль. При подготовке отрицательного контроля вместо пробы вносят соответствующий объем дистиллированной воды и проводят все процедуры экстракции, как с исследуемым образцом, с последующим внесением в лунку планшета. При расчёте конечного результата полученные значения вычитают из значений исследованного образца (для расчёта используют тот же фактор разбавления).

9.5.10. Подготовка проб мяса, печени и почек скота и птицы.

Полностью гомогенизируют всё количество представительной пробы в гомогенизаторе или вручную в фарфоровой ступке.

Навеску гомогенизированной пробы массой 1 г вносят в центрифужную пробирку вместимостью 15 $см^3$, прибавляют 4 $см^3$ дистиллированной воды, тщательно перемешивают на вортексе, а затем перемешивают встряхиванием в течение 15 мин, используя встряхиватель с вертикальным вращением (переворотом).

Центрифугируют 10 мин при 2 000 g при комнатной температуре от плюс 20 до плюс 25 °С. Образовавшийся верхний слой жира (при наличии) удаляют с помощью шпателя или стеклянной палочки, надосадочную фазу отбирают в пустую пробирку.

Надосадочную фазу разбавляют в соотношении 1 : 8 (1 + 7) буфером для разбавления проб (п. 9.4.1) (например, 0,05 $см^3$ пробы и 0,35 $см^3$ буфера для разбавления проб).

Для анализа используют 0,05 $см^3$ подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 40.

9.5.11. Подготовка проб рыбы (лососевые) и креветок.

Полностью гомогенизируют всё количество представительной пробы в гомогенизаторе или вручную в фарфоровой ступке. Экстракцию проводят по п. 9.5.10.

Для анализа используют 0,05 $см^3$ подготовленной пробы на лунку планшета. При расчёте конечного результата учитывают фактор разбавления – 40.

9.5.12. Подготовка проб животного жира.

Пробоподготовку (экстракцию) проводят по п. 9.5.7.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Для анализа используют 0,05 см^3 подготовленной пробы на лунку планшета. При расчете конечного результата учитывают фактор разбавления – 20.

X. Проведение измерений

10.1. Раствор субстрата/хромогена светочувствителен, поэтому необходимо избегать попадания на него прямого света. При появлении окрашивания раствора субстрата/хромогена в голубоватый цвет реагент к работе непригоден.

Не допускается заменять реагенты в составе одного комплекта реагентами из другого комплекта с другим номером партии. Не допускается перекрестное использование реагентов из комплектов с разными номерами партий.

Каждая лунка стрипа при изменении оптической плотности выступает в роли оптической кюветы, поэтому необходимо избегать прикосновения и загрязнения нижней стороны лунок.

10.2. Подготовка тест-набора к исследованиям.

10.2.1. Перед выполнением анализа из планшета следует извлечь необходимое количество стрипов (8 микролунок, скрепленных в одну полоску). Остальные стрипы следует тщательно упаковать в фольгированный пакет вместе с осушителем, закрыть застежку пакета и поместить в холодильник при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С.

10.2.2. Перед использованием тест-набора доводят температуру всех реагентов до комнатной (от плюс 20 до плюс 25 °С) в течение 0,5—1 ч. Если в концентратах буфера и конъюгата образовались кристаллы, нужно растворить их путём встряхивания при комнатной температуре перед разведением этих реагентов.

10.2.3. Перед непосредственным использованием встряхивают каждый флакон с реагентами.

10.2.4. После использования реагенты тест-набора сразу убирают в холодильник.

10.2.5. На всех стадиях необходимо избегать воздействия прямого солнечного света.

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

10.2.7. Для получения точных результатов на стадиях дозирования реактивов и промывания необходимо соблюдать высокую точность и аккуратность.

10.2.8. Каждый исследуемый раствор экстрактов испытуемых проб и градуировочных растворов анализируют в двух повторностях.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

10.2.9. Оптимальные результаты будут получены только при строгом соблюдении приведенной методики.

10.3. Подготовка реагентов к исследованиям.

Приготовление растворов со 100-кратным разведением из концентратов антител и коньюгата должны проводиться автоматическими дозаторами с диапазоном дозирования от 0,005 до 0,050 $см^3$, обеспечивающими строгий количественный отбор концентратов антител и коньюгата. После внесения в буфер для разбавления необходимо провести тщательное перемешивание путем многократного пипетирования, не меняя наконечника.

Проверка используемых автоматических дозаторов на точность и сходимость результатов пипетирования должна проводиться еженедельно (например, весовым методом), допустимая относительная погрешность дозирования не должна превышать установленного в паспорте значения.

Допускается дополнительно контролировать отбираемый объем концентрата с использованием аналитических весов с наименьшим пределом взвешивания не более 0,0001 г.

10.3.1. Антитела к ампициллину поставляются в концентрированном виде. Так как разбавленный раствор антител обладает ограниченной стабильностью, перед исследованием необходимо восстанавливать строго то количество антител, которое необходимо для анализа.

Пробирку с антителами центрифугируют в течение краткого периода времени (1 мин) при 1 000 g при комнатной температуре (от плюс 20 до плюс 25 °С). Для восстановления разбавляют концентрат в соотношении 1 : 100 (1 + 99) буфером для разбавления (п. 9.4.1) (например, 0,010 $см^3$ концентрата антител + 0,99 $см^3$ буфера для разбавления; такого количества достаточно для 4 стрипов, т. е. 32 лунок).

10.3.2. Ферментный конъюгат ампициллина поставляется в концентрированном виде.

Так как разбавленный раствор конъюгата обладает ограниченной стабильностью, то перед исследованием необходимо восстанавливать строго то количество антител, которое необходимо для анализа.

Пробирку с конъюгатом центрифугируют в течение краткого периода времени (1 мин) при 1 000 g при комнатной температуре (от плюс 20 до плюс 25 °С). Для восстановления разбавляют концентрат в соотношении 1 : 100 (1 + 99) буфером для разбавления (п. 9.4.1) (например, 0,010 $см^3$ концентрата антител + 0,99 $см^3$ буфера для разбавления; такого количества достаточно на 4 стрипа, т. е. 32 лунок).

10.3.3. Стандарт ампициллина поставляется в виде лиофилизата.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Для восстановления лиофилизата необходимо в 1 флакон со стандартом добавить 2 см^3 готового буфера для разбавления (п. 9.4.1); при этом получится стандарт 7 с концентрацией ампициллина 4 нг/см^3 (или 0,004 мкг/см^3). Далее готовят стандарты 2—6, выполнив серию разбавлений по схеме, приведенной в табл. 10.1.

Таблица 10.1

Порядок приготовления стандартов

Стандарт, восстановленный в 2 см^3 буфера для разбавления		=>	стандарт 7 = 4 нг/см^3
0,25 см^3 стандарта 7	+ 0,25 см^3 буфера для разбавления	=>	стандарт 6 = 2 нг/см^3
0,25 см^3 стандарта 6	+ 0,25 см^3 буфера для разбавления	=>	стандарт 5 = 1 нг/см^3
0,25 см^3 стандарта 5	+ 0,25 см^3 буфера для разбавления	=>	стандарт 4 = 0,5 нг/см^3
0,25 см^3 стандарта 4	+ 0,25 см^3 буфера для разбавления	=>	стандарт 3 = 0,25 нг/см^3
0,25 см^3 стандарта 3	+ 0,25 см^3 буфера для разбавления	=>	стандарт 2 = 0,125 нг/см^3

Буфер для разбавления (п. 9.4.1) используется как стандарт 1 = 0 нг/см^3.

Для экономичного расходования приготовленных стандартов допускается разделить стандарты на аликвоты и заморозить их при минус 20 °С, в таком виде их можно хранить до 1 недели. Не допускается повторное замораживание /оттаивание стандартов.

10.4. Алгоритм проведения исследования.

10.4.1. В рамку планшета вставляют необходимое количество микролунок, достаточное для всех растворов стандартов и растворов исследуемых проб при анализе в двух повторностях каждый. Записывают положения лунок со стандартами и исследуемыми растворами на бланке планшета.

10.4.2. Добавляют в выбранные пары лунок по 0,05 см^3 каждой концентрации раствора стандарта и раствора подготовленной пробы продукта.

10.4.3. Затем в каждую лунку добавляют по 0,025 см^3 разбавленного ферментного конъюгата (п. 10.3.2).

10.4.4. Далее в каждую лунку добавляют по 0,025 см^3 разбавленного раствора антител (п. 10.3.1). Перемешивают, осторожно покачивая планшет рукой, и оставляют для инкубации при температуре (+4 ± 2) °С в холодильнике в течение 1 часа в темном месте.

10.4.5. По окончании инкубации выливают жидкость из лунок, переворачивая рамку планшета, и тщательно выбивают капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного интенсивного постукивания рамкой с лунками по столу (максимально выбивая капли из лунок), накрытому фильтровальной бумагой.

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

10.4.6. Заполняют лунки моющим буфером (п. 9.4.2), внося по 0,3 $см^3$ в каждую лунку, используя восьмиканальный дозатор. После контакта выливают буфер для промывки из лунок и тщательно выбивают капельки жидкости. Процедура отмывки повторяется трижды.

Допускается для увеличения производительности использование автоматического устройства для отмывки иммунологических планшетов.

Примечание. Необходимо следовать рекомендованной процедуре промывки и не допускать высыхания микролунок в процессе выполнения анализа.

10.4.7. После отмывания добавляют по 0,1 $см^3$ смеси субстрата/хромогена в каждую лунку. Перемешивают, осторожно покачивая планшет рукой, и оставляют для инкубации при комнатной температуре (от плюс 20 до плюс 25 °С) в течение 30 минут в темном месте.

10.4.8. По окончании инкубации добавляют в каждую лунку по 0,1 $см^3$ стоп-реагента. Перемешивают, осторожно покачивая планшет рукой, немедленно измеряют оптическую плотность в каждой лунке.

XI. Обработка результатов измерений

11.1. Инструментальный учет реакции проводят путем измерения оптической плотности на микропланшетном иммуноферментном анализаторе (планшетный фотометр, ридер) при длине волны 450 нм против нулевого стандарта, значение которого принимается за 100 %.

Величина оптической плотности, измеренной в лунке с нулевым стандартом, ниже 0,8 ($A_{450нм} < 0,8$) является признаком порчи реагентов. Окрашивание красноватого раствора субстрата/хромогена в голубой цвет перед постановкой анализа также является признаком порчи реагентов. Результаты анализа в таком случае не учитываются.

11.2. Для обработки результатов иммуноферментного анализа используется специальное программное обеспечение, рекомендованное изготовителем тест-набора. Пример стандартной калибровочной кривой дан в сертификате обеспечения качества на тест-набор.

Программное обеспечение выполняет построение градуировочной зависимости относительной оптической плотности B/B_0 от натурального логарифма концентрации антибиотика:

$$Bi/B_0 = a + b \cdot ln\, C_i, \text{ где} \quad (1)$$

Bi – оптическая плотность раствора антибиотика;

Bo – оптическая плотность 1-го градуировочного раствора с концентрацией антибиотика 0,00 мкг/$дм^3$;

C_i – концентрация антибиотика в *i*-м градуировочном растворе, мкг/$дм^3$ (нг/$см^3$).

ФБУЗ ФЦГИЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Расчет коэффициентов линейной регрессии a и b проводится с помощью метода наименьших квадратов на основании пар значений Bi/B_0, lnC_i, полученных для шести градуировочных растворов, где ($i = 2...7$), C_i – концентрация i-го градуировочного раствора, B_i – среднее значение оптической плотности, рассчитанное по двум значениям оптической плотности параллельных измерений i-го градуировочного раствора. Массовая концентрация антибиотика в пробе рассчитывается на основании результатов измерений оптической плотности раствора подготовленной пробы, коэффициентов линейной регрессии и фактора разбавления по формуле:

$$X = F \cdot \exp\left(\frac{B_x / B_{0\text{-}a}}{b}\right), \text{ где} \qquad (2)$$

X – концентрация антибиотика в пробе, мкг/кг (мкг/дм^3) (нг/г или нг/см^3);

B_x – оптическая плотность, полученная при измерении раствора пробы (экстракта);

F – фактор разбавления пробы.

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

11.3. Обработку результатов анализа без программного обеспечения проводят следующим образом.

Измеренные показатели оптической плотности переносят в таблицу и располагают в соответствии с номерами образцов.

Вычисляют средние значения оптической плотности стандартных и исследуемых растворов, полученные по 2 параллельным микролункам в результате двух параллельных определений.

Относительную оптическую плотность (A) вычисляют по формуле:

$$A = \frac{B_i}{B_o} \cdot 100, \text{ где} \qquad (3)$$

A – значение относительной оптической плотности, выраженное в процентах от оптической плотности нулевого стандарта, % поглощения;

B_i – среднее значение оптической плотности шести стандартных растворов антибиотика ($i = 2...7$) (или исследуемых экстрактов испытуемых проб);

B_o – среднее значение оптической плотности 1-го градуировочного раствора (нулевого стандарта).

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

11.4. По величинам значений относительной оптической плотности, вычисленным для стандартных растворов, и соответствующим им значениям концентрации антибиотика в мкг/дм^3 строят калибровочную кривую (градуировочный график) в полулогарифмической системе координат.

11.5. Концентрацию антибиотика (x) в мкг/дм^3 (нг/см^3) в экстракте испытуемой пробы считывают по калибровочной кривой соответственно значениям оптической плотности (в пределах значений 2—7 градуировочных растворов), которые вычислены по формуле (3).

11.6. Массовую концентрацию (содержание) антибиотика в испытуемой пробе (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{F \cdot x}{K}, \text{ где} \qquad (4)$$

X – массовая концентрация антибиотика в испытуемой пробе, мг/кг (мг/дм^3 - для жидких продуктов);

x – массовая концентрация антибиотика в экстракте испытуемой пробы, определяемая по градуировочному графику, мкг/дм^3;

F – фактор разбавления испытуемой пробы;

K – коэффициент пересчета мкг/дм^3 в мг/кг (мг/дм^3 – для жидких проб), равный 1000.

При выполнении пробоподготовки и анализа в полном соответствии с приведенной методикой фактор разбавления F принимает следующие значения (табл. 11.1).

Таблица 11.1

Факторы разбавления для расчета содержания пенициллинов в различных пробах

Образец	Фактор разбавления
Молоко (сырое и питьевое)	2
Молоко сгущенное, сыворотка сухая, напитки на основе сыворотки	10
Молоко сухое, молочные смеси детские сухие (в сухом продукте), сливки, йогурт, кефир, сметана (разной жирности)	20
Творог и творожные продукты, сыры (молодой, зрелый), масло из коровьего молока, спреды	20
Животный жир (говяжий, свиной)	20
Мясо и субпродукты (печень, почки) скота и птицы	40
Рыба, креветки	40

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

XII. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

12.1. При расчёте учитывают только результаты, удовлетворяющие условиям диапазона определяемых концентраций антибиотика в образце (значение равно или выше нижней границы / равно или ниже верхней границы) для соответствующего вида продукции, указанного в табл. 3.1 для каждой группы продуктов.

В случае обнаружения содержания антибиотика в подготовленном экстракте выше верхней границы градуировочного графика проводят дополнительное разведение подготовленного экстракта и в дальнейшем учитывают это разведение при обработке результата анализа.

За результат количественного анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости:

$$\bar{X} = \frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{X_1 + X_2} \leq r \text{, где} \qquad (5)$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости (табл. 3.1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

При невыполнении условия выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

XIII. Оформление результатов

13.1. Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100} \text{, где} \qquad (6)$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 3.1), %.

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, с учетом границы абсолютной погрешности результат анализа представляют в виде: «Содержание пенициллинов в молоке < 0,0003 мг/дм^3».

XIV. Контроль качества результатов измерений

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

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Приложение
к МУК 4.1.3683—20

Пересчет относительного центробежного ускорения в скорость центрифугирования

Различные модели центрифуг при одинаковых скоростях вращения ротора могут иметь отличающиеся факторы разделения, поэтому эффективность разделения в центробежном поле принято количественно оценивать как величину относительного центробежного ускорения (ОЦУ/RFS), выраженного в единицах g.

Эффективность разделения – фактор разделения *F* (ОЦУ/RFS) – зависит от частоты вращения и радиуса центрифугирования и рассчитывается по следующей формуле:

$$F = 11{,}18 \cdot r \cdot \left(\frac{n^2}{1000}\right)^2, \text{ где} \qquad (1)$$

n – скорость в ращения ротора, об/мин;

r – средний радиус вращения столбика жидкости в центрифужной пробирке, см.

Радиус измеряется от оси вращения ротора до середины столбика жидкости в пробирке, когда держатель пробирки (при наличии подвижного держателя) находится в положении центрифугирования (под углом к оси вращения).

Если необходимо обеспечить заданный фактор разделения, то для расчета скорости центрифугирования используют следующую формулу:

$$n = 1000 \cdot \sqrt{\frac{F}{11{,}18 \cdot r}} \qquad (2)$$

Для облегчения расчета можно использовать номограмму, отражающую зависимость относительного ускорения центрифуги (ОЦУ/RFS) от скорости вращения ротора (n) и радиуса (r) – среднего радиуса вращения столбика жидкости в центрифужной пробирке.

Пример.

Необходимо определить скорость вращения центрифуги для достижения относительного центробежного ускорения (фактора разделения) 4000 g, если средний радиус вращения столбика жидкости в центрифужной пробирке (от оси ротора до точки в середине высоты столбика) равен 8 см.

Способ 1 – путем расчета по формуле (2):

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

$$n = 1000 \cdot \sqrt{\frac{4000}{11{,}18 \cdot 8}} = 6687. \qquad (2)$$

Таким образом, для получения фактора разделения 4000 g необходимо установить скорость центрифугирования примерно 6700 об./мин.

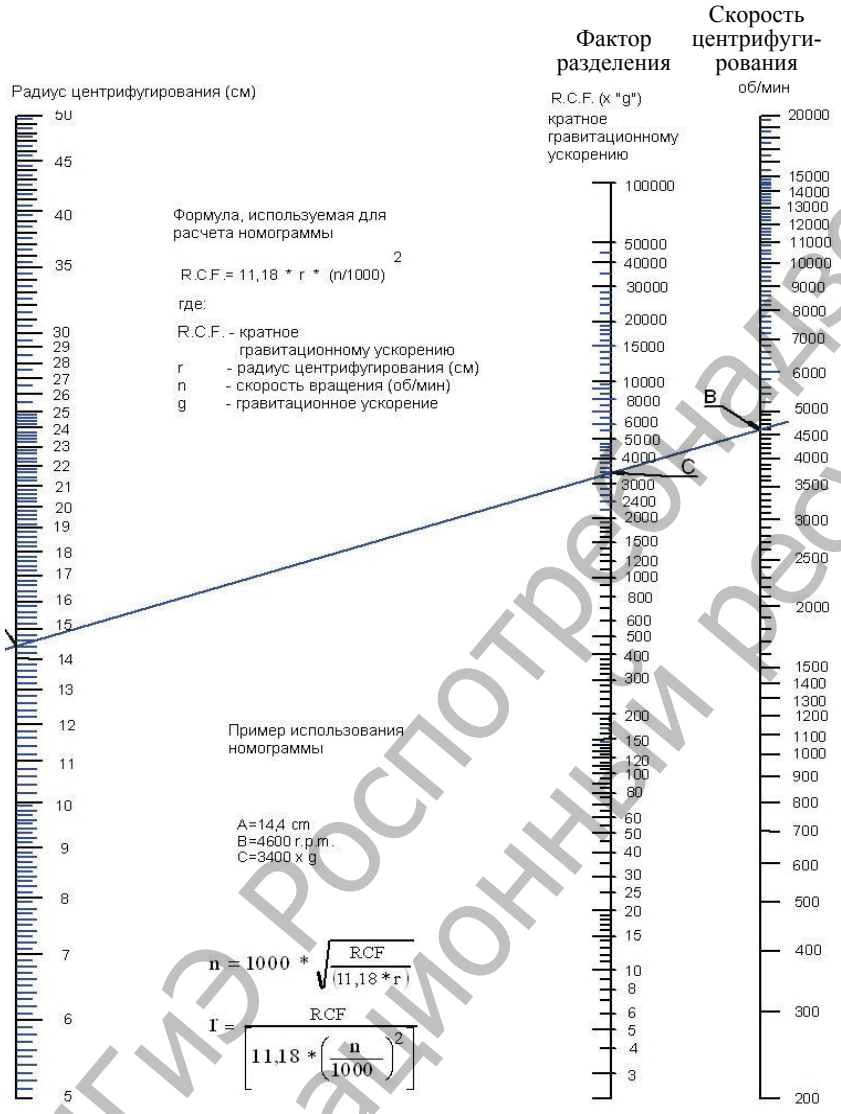
Способ 2 – с использованием номограммы.

На номограмме проводят прямую линию от точки 8 на шкале «Радиус центрифугирования» через точку 4000 на шкале «Фактор разделения RFS» до пересечения со шкалой «Скорость центрифугирования», значение в точке пересечения с которой определяет скорость центрифугирования – примерно 6700 об./мин.

Примечание. Необходимо учитывать, что средний радиус определяется как расстояние от оси ротора до точки середины высоты столбика жидкости в центрифужной пробирке и будет меняться в зависимости количества жидкости в центрифужной пробирке (высоты столбика жидкости).

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Номограмма для определения скорости центрифугирования при заданном факторе разделения для центрифуг различных моделей



ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс

Библиографические ссылки

1. Приказ Минтруда России от 19.04.2017 № 371 «Об утверждении Правил по охране труда при использовании отдельных видов химических веществ и материалов».

2. МУК 4.1.3534—18 «Подготовка проб для проведения исследований по определению остаточных количеств антибиотиков и антимикробных препаратов».

3. ГОСТ 1770 «Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия».

4. ГОСТ 29227 (ИСО 835-1) «Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования».

5. ГОСТ 6709 «Вода дистиллированная. Технические условия».

6. ГОСТ 12026 «Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия».

7. ГОСТ 23932 «Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия».

8. ГОСТ 25336 «Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры».

9. ГОСТ 12.1.007 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

10. ГОСТ 12.1.004 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Пожарная безопасность. Общие требования».

11. ГОСТ 12.4.009 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание».

12. ГОСТ 12.1.019 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

13. ГОСТ Р ИСО 5725-6 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора
Информационный ресурс