
МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
33615—
2015

**ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ,
ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ**

**Иммуноферментный метод определения
остаточного содержания метаболита
фуразолидона**

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2019

Предисловие

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

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 октября 2015 г. № 81-П)

За принятие проголосовали:

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

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 января 2016 г. № 4-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33615—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартиформ, оформление, 2016, 2019



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

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины, определения и сокращения	2
4 Сущность метода	2
5 Метрологические характеристики	3
6 Требования безопасности и условия выполнения измерений	3
7 Средства измерений, аппаратура, материалы, посуда и реактивы	3
8 Подготовка к выполнению измерений	4
8.1 Подготовка оборудования	4
8.2 Приготовление растворов	5
8.3 Отбор проб	6
8.4 Подготовка проб	6
9 Проведение иммуноферментного анализа	6
9.1 Общие положения	6
9.2 Подготовка тест-системы к проведению анализа	6
9.3 Проведение анализа	7
10 Обработка результатов измерения	8
11 Контроль точности результатов измерения	9
Приложение А (рекомендуемое) Комплектация тест-системы «Фуразолидон — ИФА»	10
Приложение Б (рекомендуемое) Схема заполнения лунок планшета	10
Приложение В (рекомендуемое) Таблица для записи результатов измерения	11

Поправка к ГОСТ 33615—2015 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фуразолидона

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 7.1, первое перечисление	наибольшим пределом взвешивания не более 150 г и	—
второе перечисление	- весы микроаналитические с наибольшим пределом взвешивания 52 г, с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более $\pm 0,01$ мг;	—

(ИУС № 4 2020 г.)

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Иммуноферментный метод определения остаточного
содержания метаболита фуразолидонаFood products, food raw materials.
Immunoenzymatic method for determination of furazolidone metabolite

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо, мясо птицы, яйца, яичный порошок, яичный меланж, молоко, рыбу, мед и устанавливает иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фуразолидона (3-амино-2-оксазолидинона) в диапазоне измерений от 0,7 до 62,5 мкг/кг, для сухого молока — от 7 до 625 мкг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

- ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования
- ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности
- ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты
- ГОСТ 334 Бумага масштабно-координатная. Технические условия
- ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
- ГОСТ 2652 Калия бихромат технический. Технические условия
- ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия
- ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия
- ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия
- ГОСТ ИСО 5725-6—2003¹⁾ Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике
- ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия
- ГОСТ 7269 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести
- ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
- ГОСТ 19792 Мед натуральный. Технические условия
- ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

¹⁾ В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

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

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

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

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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (www.eurasia.org) или по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

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

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

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

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

АОЗ — 3-амино-2-оксазолидинон (метаболит фуразолидона);

АГ — антиген;

АТ — антитела;

ИФА — иммуноферментный анализ;

ОП — оптическая плотность;

П — относительное поглощение;

ТМБ — 3,3',5,5'-тетраметилбензидин;

ФК — ферментный конъюгат.

4 Сущность метода

4.1 Иммуноферментный метод основан на измерении массовой концентрации АОЗ в растворах экстрактов исследуемых проб с помощью прямого твердофазного конкурентного ИФА.

4.2 Прямой твердофазный конкурентный ИФА основан на способности маркерного метаболита АОЗ и ФК в условиях конкуренции взаимодействовать со специфическими АТ, нанесенными на поверхность лунок планшета.

4.3 Связавшийся с АТ АОЗ, меченный пероксидазой хрена, выявляют путем измерения интенсивности окрашивания продукта реакции окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (раствор № 5, см. приложение А) перекисью водорода.

Аналитический сигнал (регистрируемое значение ОП), характеризующий степень взаимодействия АТ с АГ, обратно пропорционален массовой концентрации АОЗ в растворе.

5 Метрологические характеристики

5.1 Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений массовой концентрации (содержания) АОЗ с расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений при коэффициенте охвата $k = 2$, указанной в таблице 1.

Таблица 1 — Метрологические характеристики метода

АОЗ (3-амино-2-оксазолидин)	Диапазон измерений содержания, мкг/дм ³ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности U , при коэффициенте охвата $k = 2$, $P = 0,95$, %	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратичное отклонение повторяемости) σ_p , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_D , %	Предел повторяемости r , % (при $P = 0,95$, $n = 2$)
В мясе, мясе птицы, яйцах, яичном порошке, яичном меланже, рыбе, молоке, меде	От 0,7 до 2,0 включ.	50	16	24	44
	Св. 2,0 до 62,5 включ.	30	9	14	25
В сухом молоке	От 7 до 20 включ.	50	16	24	44
	Св. 20 до 625 включ.	30	9	14	25

6 Требования безопасности и условия выполнения измерений

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

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

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

6.4 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 20 °С до 30 °С;
- атмосферное давление от 84 до 106 кПа;
- напряжение в питающей электросети от 200 до 240 В;
- частота переменного тока от 49 до 51 Гц;
- относительная влажность воздуха от 40 % до 80 %.

7 Средства измерений, аппаратура, материалы, посуда и реактивы

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

- весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с наибольшим пределом взвешивания не более 150 г и пределом допускаемой абсолютной погрешности $\pm 0,05$ г;
- весы микроаналитические с наибольшим пределом взвешивания 52 г, с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более $\pm 0,01$ мг;
- рН-метр любой марки, позволяющий проводить измерения в диапазоне от 3 до 10 ед. рН с погрешностью $\pm 0,05$ ед. рН;
- фотометр вертикального типа фотометрирования с диапазоном измерений ОП от 0 до 3 в комплекте с интерференционными светофильтрами для длин волн 450 и 620 нм;
- баню водяную с терморегулятором, позволяющим поддерживать температуру от 40 °С до 100 °С, с отклонением от заданной температуры ± 5 °С;

- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- калькулятор любого типа с логарифмической функцией;
- микроцентрифугу любого типа с частотой вращения 7000 об/мин;
- морозильную камеру любого типа, обеспечивающую среднюю температуру в холодильной камере не выше минус 20 °С;
- роторный испаритель любого типа или устройство для испарения экстрактов, с термостатируемым нагревательным модулем с системой отдувки растворителей инертным газом;
- термостат любого типа, поддерживающий температуру (37 ± 1) °С;
- холодильник бытовой с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от 0 °С до 8 °С;
- центрифугу с бакет-ротором и адаптером для пробирок вместимостью 15 см³, частотой вращения не менее 4000 об/мин;
- шейкер переворачивающий вертикального вращения 360 ° в одной плоскости с адаптером для пробирок и диапазоном скорости от 20 до 100 об/мин;
- шейкер вихревого типа, с вставкой для одной пробирки и диапазоном скорости от 150 до 2500 об/мин;
- шкаф сушильный любого типа, обеспечивающий поддержание температуры не менее (95 ± 5) °С;
- бумагу индикаторную универсальную, pH 0—12;
- бумагу масштабнo-координатную по ГОСТ 334, марки Н-1;
- бумагу фильтровальную лабораторную по ГОСТ 12026;
- колбы 1-100 (1000)-2 по ГОСТ 1770;
- колбы конические Кн-1-25(50)-24/29 ТС по ГОСТ 25336;
- пипетки многоканальные переменной вместимости 0,03—0,3 см³, с допустимой относительной погрешностью дозирования по метанолу и ацетонитрилу не более ± 1,0 %;
- пипетки одноканальные переменной вместимости 0,005—0,05; 0,1—1,0; 0,5—5,0 см³ с допустимой относительной погрешностью дозирования по карбинолу и ацетонитрилу не более ± 1 %;
- пробирки стеклянные типа П-1-10-0,1 ХС по ГОСТ 25336;
- пробирки стеклянные типа «Фалькон» вместимостью 50 см³ с закручивающимися крышками;
- пробирки типа «Эппендорф» вместимостью 1,5 см³;
- цилиндры 1(2,3)-10(250, 500)-1 по ГОСТ 1770.

7.2 При выполнении измерений применяют следующие реактивы:

- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- калия бихромат по ГОСТ 2652;
- кислоту серную по ГОСТ 4204, концентрированную;
- кислоту соляную по ГОСТ 3118, концентрированную, плотностью 1,19 г/см³, х. ч.;
- метанол с содержанием основного вещества не менее 99 %, х. ч.;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.;
- натрия фосфат додекагидрат с содержанием основного вещества не менее 98 %;
- н-гексан с содержанием основного вещества не менее 98 %, х. ч.;
- тест-систему для прямого твердофазного конкурентного ИФА в комплектации (приложение А), которая предназначена для определения АОЗ;
- этилацетат с содержанием основного вещества не менее 98 %, х. ч.

8 Подготовка к выполнению измерений

8.1 Подготовка оборудования

8.1.1 При подготовке к проведению измерений 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.

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

8.2 Приготовление растворов

8.2.1 Приготовление раствора фосфата натрия с молярной концентрацией 0,3 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ вносят 11,4 г натрия фосфата додекагидрата, растворяют в 500 см³ дистиллированной воды и доводят объем раствора до метки водой.

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

8.2.2 Приготовление раствора соляной кислоты с молярной концентрацией 1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 8,5 см³ концентрированной соляной кислоты, доводят объем раствора дистиллированной водой до метки, закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

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

8.2.3 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 0,4 г гидроокиси натрия, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, перемешивают и доводят до метки дистиллированной водой.

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

8.2.4 Приготовление рабочих градуировочных растворов АОЗ K₁—K₅

8.2.4.1 Приготовление исходного раствора K₀

В пробирку типа «Эппендорф» вносят 0,9 см³ дистиллированной воды, добавляют 0,1 см³ реактива № 1 (см. приложение А), перемешивают на шейкере в течение 30 с.

8.2.4.2 Приготовление рабочих градуировочных растворов АОЗ K₁—K₅

Рабочие градуировочные растворы K₁—K₅ готовят в стеклянных пробирках типа «Фалькон» согласно таблице 2.

Таблица 2 — Приготовление рабочих градуировочных растворов K₁—K₅

Название и массовая концентрация приготавливаемого раствора АОЗ	Вносимый объем, см ³				
	дистиллированной воды	исходного раствора K ₀	рабочего раствора K ₅	рабочего раствора K ₄	рабочего раствора K ₃
K ₅ (62,5 мкг/дм ³)	0,9	0,1	—	—	—
K ₄ (12,5 мкг/дм ³)	0,8	—	0,2	—	—
K ₃ (2,5 мкг/дм ³)	0,8	—	—	0,2	—
K ₂ (0,5 мкг/дм ³)	0,8	—	—	—	0,2
K ₁ (0 мкг/дм ³)	1,0	—	—	—	—

Пробирки закрывают крышками и перемешивают на шейкере в течение 20 с.

Используют свежеприготовленные растворы.

8.2.5 Приготовление рабочего раствора буфера для промывки

В колбу вместимостью 50 см³ вносят 28 см³ дистиллированной воды, добавляют 1,47 см³ реактива № 3 (см. приложение А), перемешивают.

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

8.2.6 Приготовление рабочего раствора реакционного буфера

В стеклянную пробирку вносят 10 см³ реактива № 4 (см. приложение А) и 0,0065 см³ реактива № 7 (см. приложение А), перемешивают на шейкере в течение 30 с.

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

8.2.7 Приготовление 20 % раствора метанола в рабочем растворе реакционного буфера

В колбу вместимостью 25 см³ вносят 8 см³ рабочего раствора реакционного буфера (см. 8.2.6), добавляют 2 см³ метанола, перемешивают.

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

8.2.8 Приготовление рабочего раствора ферментного конъюгата

В стеклянную пробирку вносят 2,25 см³ реактива № 4 (см. приложение А) и 0,25 см³ реактива № 2 (см. приложение А), перемешивают на шейкере в течение 10 с.

Используют свежеприготовленный раствор.

8.3 Отбор проб

8.3.1 Отбор проб мяса — по ГОСТ 7269.

8.3.2 Отбор проб мяса птицы — по ГОСТ 31467.

8.3.3 Отбор проб молока — по ГОСТ 26809.

8.3.4 Отбор проб яиц, яичного меланжа и яичного порошка — по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

8.3.5 Отбор проб рыбы — по ГОСТ 31339.

8.3.6 Отбор проб меда — по ГОСТ 19792.

8.3.7 Срок хранения отобранных проб при температуре от 2 °С до 8 °С — 2 сут. При отсутствии возможности исследования проб в течение двух суток они должны быть заморожены при температуре минус 20 °С со сроком хранения не более 2 мес.

8.4 Подготовка проб

8.4.1 Мышечную ткань предварительно очищают от жира, грубой соединительной ткани и измельчают на гомогенизаторе.

8.4.2 Яйца отделяют от скорлупы и перемешивают на гомогенизаторе. Меланж, яичный порошок тщательно перемешивают.

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

При подготовке сухого молока 1 г пробы перемешивают с 10 см³ дистиллированной воды до полного растворения. Далее проводят обезжиривание, как описано выше.

8.4.4 1,00 г гомогенизированной пробы или 1 см³ обезжиренного молока помещают в стеклянные пробирки типа «Фалькон». Затем обрабатывают испытуемые пробы и градуировочные растворы, приготовленные по 8.2.4.2, как указано на рисунке 1.

9 Проведение иммуноферментного анализа

9.1 Общие положения

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

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

9.1.3 Окрашивание раствора субстрата № 5 (см. приложение А) является признаком его порчи и делает невозможным его применение для анализа.

9.2 Подготовка тест-системы к проведению анализа

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

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

9.2.3 На всех стадиях необходимо избегать воздействия прямого солнечного света.

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

9.2.5 Каждый исследуемый раствор экстрактов испытуемых проб (см. 8.4) и градуировочных растворов (см. 8.2.4.2) анализируют в двух повторностях.

Примечание — Далее приведены расходы реактивов на два стрипа¹⁾, что достаточно для анализа трех исследуемых проб. Для другого числа проб количество используемых стрипов и смешиваемых объемов реагентов изменяют в соответствии с количеством исследуемых проб.

¹⁾ Стрип — полоска из восьми лунок.

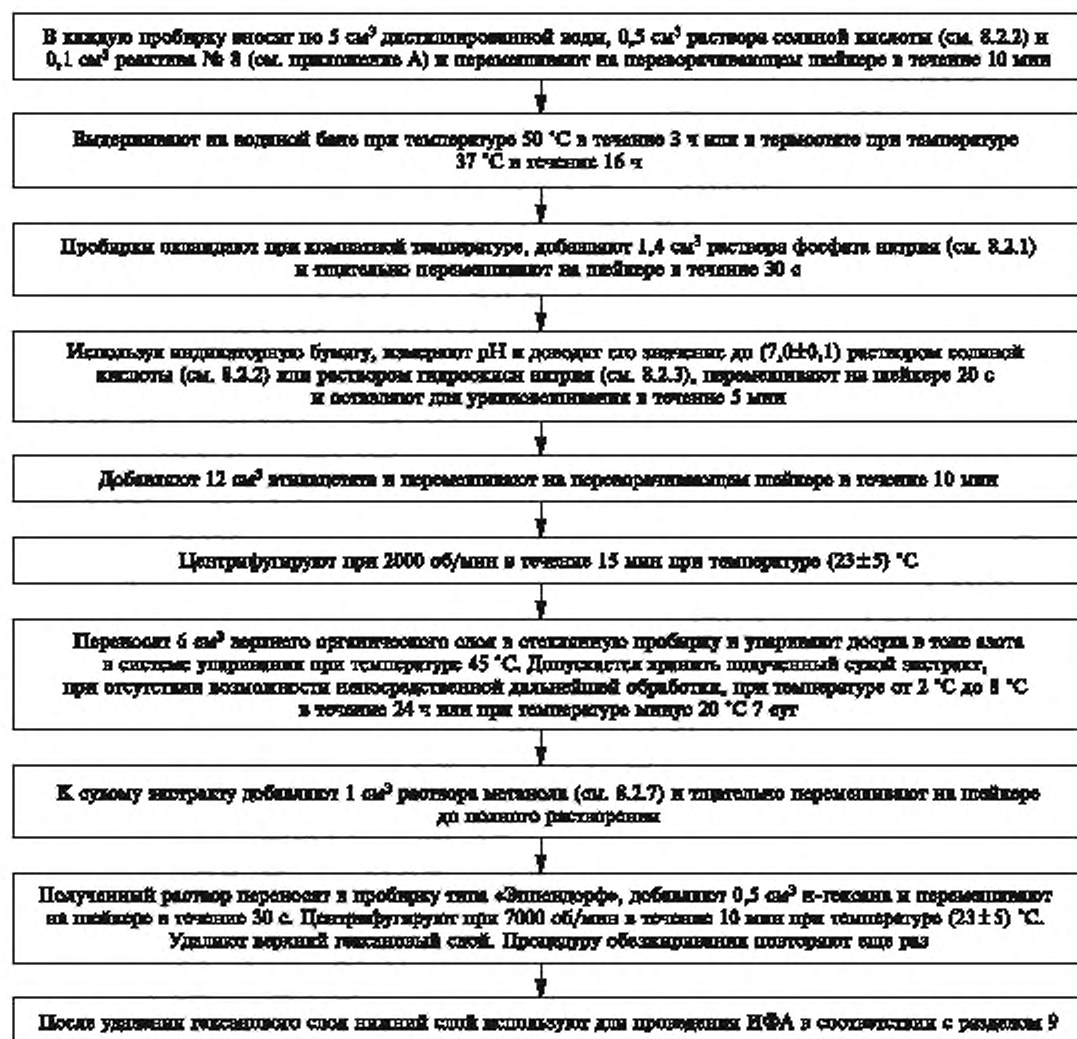


Рисунок 1 — Обработка испытуемых проб и градуировочных растворов

9.3 Проведение анализа

9.3.1 Из планшета извлекают необходимое число стрипов. Неиспользованные стрипы хранят в закрытом фольгированном полиэтиленовом пакете с зип-локом¹⁾ при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности тест-системы.

9.3.2 В лунки планшета вносят по 0,05 см³ экстрактов рабочих градуировочных растворов K_1 — K_5 (см. 8.2.4.2) и растворов испытуемых проб.

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

Внесение растворов проводят согласно приложению Б.

Далее в каждую лунку вносят по 0,05 см³ рабочего раствора ферментного конъюгата (см. 8.2.8). Стрипы заклеивают пленкой или закрывают крышкой, инкубируют в термостате при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 1 ч, после чего содержимое лунок сливают.

¹⁾ Зип-лок — замок, обеспечивающий герметизацию пакета.

9.3.3 В лунки планшета вносят по 0,2 см³ раствора буфера для промывки (см. 8.2.5), оставляют на 1—2 мин и сливают. Процедуру промывки повторяют еще три раза. Остатки жидкости интенсивно стряхивают на чистую фильтровальную бумагу.

9.3.4 В лунки планшета вносят по 0,1 см³ раствора № 5 (см. приложение А) и инкубируют в термостате при температуре 37 °С в течение 10 мин. Добавляют по 0,1 см³ раствора № 6 (см. приложение А), аккуратно перемешивают легким постукиванием по ребру планшета. Помещают планшет в вертикальный фотометр и измеряют значения ОП для длины волны 450 нм.

10 Обработка результатов измерения

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

Связывание АТ (или относительное поглощение Π , %) рассчитывают по формуле

$$\Pi = \frac{\text{ОП}_n}{\text{ОП}_k} \cdot 100, \quad (1)$$

где ОП_n — среднее значение ОП, измеренной в лунках с экстрактами градуировочных растворов K_2 — K_5 (см. 8.2.4) и с растворами экстрактов испытуемых проб;

ОП_k — среднее значение ОП, измеренной в лунках с нулевым стандартом (экстрактом градуировочного раствора K_1 (см. 8.2.4)).

По значениям процентов связывания, вычисленным для градуировочных растворов с соответствующими известными значениями массовой концентрации АОЗ, мкг/дм³, строят градуировочный график в полулогарифмической системе координат.

10.2 Для построения градуировочного графика используют масштабно-координатную бумагу. На ось абсцисс наносят значения логарифмов концентраций АОЗ в градуировочных растворах K_2 — K_5 (см. 8.2.4.2). По оси ординат откладывают значения процентов связывания, рассчитанные для массовых концентраций по формуле (1). Градуировочный график строят с использованием линейной зависимости.

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

10.4 Массовую концентрацию (содержание) АОЗ в испытуемой пробе C , мкг/дм³ (мкг/кг), рассчитывают по формуле

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

где c — массовая концентрация АОЗ в рабочем растворе экстракта испытуемой пробы, определяемая по градуировочному графику, мкг/дм³;

K — коэффициент пересчета мкг/дм³ в мкг/кг в экстракте испытуемой пробы, учитывающий ее разведение; для сухого молока равен 10, для остальных проб — единице.

Образец записи результатов измерений приведен в приложении В.

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

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

где C_1 и C_2 — результаты определений массовой концентрации (содержания) АОЗ, полученные в условиях повторяемости, мкг/дм³ (мкг/кг);

$C_{\text{ср}}$ — среднеарифметическое результатов двух определений массовой концентрации АОЗ в испытуемой пробе, мкг/дм³ (мкг/кг);

$r_{\text{отн}}$ — предел повторяемости (%), приведенный в таблице 1.

Результаты измерений массовой концентрации (содержания) АОЗ мкг/дм^3 (мкг/кг) округляют до первого знака после запятой.

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

С помощью компьютерной системы обработки данных строят градуировочную зависимость оптической плотности раствора от массовой концентрации АОЗ и аппроксимируют линейной функцией.

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

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

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

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

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

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

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

где C — массовая концентрация (содержание) АОЗ в испытуемой пробе, мкг/дм^3 (мкг/кг);

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

11 Контроль точности результатов измерения

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) и воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (раздел 5).

Приложение А
(рекомендуемое)

Комплектация тест-системы¹⁾ «Фуразолидон — ИФА»

В комплектацию тест-системы входят:

Планшет 96-луночный полистироловый стрипованный для иммунологических исследований, с иммобилизованными антителами;

Пакет полиэтиленовый фольгированный с зип-локом;

Пленка полиэтиленовая самоклеящаяся для заклеивания планшетов.

Растворы:

№ 1 — АОЗ — раствор с известным содержанием АОЗ ($6,25 \text{ мкг/см}^3$);

№ 2 — ФК — конъюгат АОЗ с пероксидазой хрена;

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

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

№ 5 — раствор субстрата на основе 3,3',5,5'-ТМБ с добавлением перекиси водорода;

№ 6 — стоп-реагент — раствор серной кислоты молярной концентрации $0,5 \text{ моль/дм}^3$;

№ 7 — раствор натрия ацетата молярной концентрации $3,0 \text{ моль/дм}^3$;

№ 8 — раствор 2-нитробензальдегида в ДМСО с молярной концентрацией $0,01 \text{ моль/дм}^3$.

¹⁾ Данный комплект реагентов является рекомендуемым и приведен для удобства пользователей настоящего стандарта.

Приложение Б
(рекомендуемое)

Схема заполнения лунок планшета

Внесение реагентов следует проводить согласно следующей схеме:

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

Приложение В
(рекомендуемое)

Таблица для записи результатов измерения

Таблица В.1

Маркировка варианта	Значение ОП		$\frac{ОП_n}{ОП_k} \cdot 100, \%$	$ \lg C$	Массовая концентрация (содержание) АОЗ	
	по пунктам	среднее			в экстракте, с. мкг/дм ³	в исследуемой пробе, С, мкг/дм ³ (мкг/кг)
K ₁					0	
K ₁						
K ₂				0,3	0,5	
K ₂						
K ₃				0,4	2,5	
K ₃						
K ₄				1,1	12,5	
K ₄						
K ₅				1,8	62,5	
K ₅						
№ 1						
№ 1						
№ ...						
№ ...						
№ 42						
№ 42						
№ 43						
№ 43						

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

Редактор Ю.А. Расторгуева
Технический редактор В.Н. Прусакова
Корректор М.И. Першина
Компьютерная верстка Е.А. Кондрашовой

Сдано в набор 29.11.2019. Подписано в печать 09.12.2019. Формат 60×84%. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,70.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,

117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Поправка к ГОСТ 33615—2015 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фуразолидона

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

(ИУС № 7 2019 г.)

Поправка к ГОСТ 33615—2015 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания метаболита фуразолидона

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 7.1, первое перечисление	наибольшим пределом взвешивания не более 150 г и	—
второе перечисление	- весы микроаналитические с наибольшим пределом взвешивания 52 г, с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более $\pm 0,01$ мг;	—

(ИУС № 4 2020 г.)