

Республиканское унитарное предприятие  
«Белорусский государственный институт метрологии»  
(БелГИМ)

**СВИДЕТЕЛЬСТВО О МЕТРОЛОГИЧЕСКОМ ПОДТВЕРЖДЕНИИ ПРИГОДНОСТИ  
МЕТОДИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ (МВИ) № 1155МПП/2018**

**Обозначение и наименование методики выполнения измерений:**

МВИ.МН 6103-2018 «Массовая доля дезоксиниваленола в зерне, зернобобовых и масличных культурах, продуктах их переработки. Методика выполнения измерений методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ»

**Заявитель:** Институт биоорганической химии НАН Беларуси

**Разработчик:** Институт биоорганической химии НАН Беларуси

Методика выполнения измерений соответствует требованиям, установленным в ТКП 8.006-2011 «Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь. Метрологическое подтверждение пригодности методик выполнения измерений. Правила проведения работ».

Свидетельство о метрологическом подтверждении пригодности методики выполнения измерений выдано на основании экспертного заключения по результатам метрологической экспертизы от 20.12. 2018 г.

Заместитель директора по науке



Н.В. Баковец



Рэспубліканскае унітарнае прадпрыемства  
"БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАУНЫ  
ІНСТЫТУТ МЕТРАЛОГІІ"  
- БелДИМ -

Старавіленскі тракт 93, г. 220053, Мінск,  
Тэлефон (017) 233 55 01 Факс (017) 288 09 38  
Эл. пошта: info@belgim.by  
IBAN BY11 BPSB 3012 1027 7601 4933 0000  
Рэгіянальная дырэцыя №700 па г. Мінску  
і Мінскай вобласці ААТ «БПС-Сбербанк»,  
BIC SWIFT BPSBKY2X г. Мінск праспект Машэрава, 80  
УНП 100055197, АКПА 02568454

Рэспубліканскае унітарнае прадпрыемства  
"БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ"  
- БелГИМ -

Старовиленский тракт 93, 220053, Минск  
Телефон +375 17 233 55 01 Факс +375 17 288 09 38  
Эл. почта: info@belgim.by  
IBAN BY11 BPSB 3012 1027 7601 4933 0000  
Региональная дирекция №700 по г. Минску  
и Минской области ОАО «БПС-Сбербанк»,  
BIC SWIFT BPSBKY2X, г. Минск проспект Машерова, 80  
УНП 100055197, ОКПО 02568454

20.12. 2018 г. № 28-12/20107  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

### СВИДЕТЕЛЬСТВО № 1155/2018 об аттестации МВИ

#### Массовая доля дезоксиниваленола в зерне, зернобобовых и масличных культурах, продуктах их переработки. Методика выполнения измерений методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ»

Методика выполнения измерений, разработанная Институтом биоорганической химии НАН Беларуси, и регламентированная в **МВИ.МН 6103-2018 «Массовая доля дезоксиниваленола в зерне, зернобобовых и масличных культурах, продуктах их переработки. Методика выполнения измерений методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ»**, аттестована в соответствии с ТКП 8.006-2011.

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке и экспериментальному исследованию МВИ.

В результате аттестации установлено, что МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками при принятой доверительной вероятности  $P=0,95$ :

Измеряемая величина	Диапазон измерений, мг/кг	Группы продуктов	Повторяемость $\sigma_r$ , %	Промежуточная прецизионность $\sigma_{(то)}$ , %
Массовая доля дезоксиниваленола	от 0,20 до 6,00 вкл.	Зерно и мучные кондитерские изделия, мукомольно-крупяные и хлебобулочные изделия, зернобобовые культуры	8,5	10,5
		Продукты масложировой промышленности, глютен, масличные культуры, корма	11,2	13,2

Заместитель директора по науке



Н.В. Баковец

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по науке БелГИМ

Н.В. Баковец

" 20 "

2018



### ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по результатам метрологической экспертизы  
методики выполнения измерений (МВИ)

**Наименование МВИ:** Массовая доля дезоксиниваленола в зерне, зернобобовых и масличных культурах, продуктах их переработки. Методика выполнения измерений методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ»

**Разработчик:** Институт биоорганической химии НАН Беларуси

**На метрологическую экспертизу представлены следующие документы:**

- 1 Методика выполнения измерений
- 2 Отчет об экспериментальных исследованиях метрологических характеристик МВИ

**По результатам метрологической экспертизы установлено:**

1 Представленная методика устанавливает методику выполнения измерений массовой доли дезоксиниваленола в зерне, зернобобовых и масличных культурах, продуктах их переработки, а также в кормах, комбикормах и глютенах методом прямого конкурентного иммуноферментного анализа с применением набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ» и обладает следующими метрологическими характеристиками:

Измеряемая величина	Диапазон измерений, мг/кг	Группы продуктов	Повторяемость $\sigma_n$ , %	Промежуточная прецизионность $\sigma_{(10)}$ , %
Массовая доля дезоксиниваленола	от 0,20 до 6,00 вкл.	Зерно и мучные кондитерские изделия, мукомольно-крупяные и хлебобулочные изделия, зернобобовые культуры	8,5	10,5
		Продукты масложировой промышленности, глютен, масличные культуры, корма	11,2	13,2

2 Методика соответствует требованиям ТКП 8.006-2011 «Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь. Метрологическое подтверждение пригодности методик выполнения измерений. Правила проведения работ».

3 Методика может быть использована для выполнения измерений массовой доли дезоксиниваленола в зерне, зернобобовых и масличных культурах, продуктах их переработки, а также в кормах, комбикормах и глютенах методом прямого конкурентного иммуноферментного анализа с применением набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ».

Начальник отдела испытаний пищевой  
и сельскохозяйственной продукции

Г.В. Артеменко

Национальная академия наук Беларуси

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора по науке  
БелГИМ

  
\_\_\_\_\_  
« 20 » 12 г.  


УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора  
Института биоорганической химии  
НАН Беларуси

  
\_\_\_\_\_  
«    » 201 г.  


Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь

МАССОВАЯ ДОЛЯ ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА В ЗЕРНЕ, ЗЕРНОБОБОВЫХ  
И МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ, ПРОДУКТАХ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Методика выполнения измерений методом иммуноферментного анализа  
с использованием набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ»

МВИ.МН 6103-2018

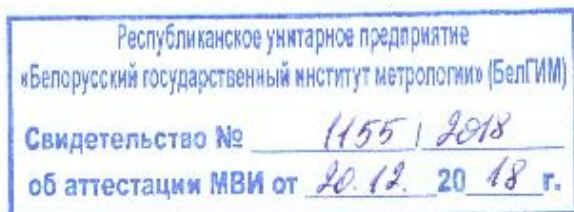
РАЗРАБОТЧИК

Институт биоорганической  
химии НАН Беларуси

Заведующий лабораторией  
\_\_\_\_\_  
О.В. Свиридов

Ведущий научный сотрудник  
\_\_\_\_\_  
И.И. Вашкевич

Научный сотрудник  
\_\_\_\_\_  
А.А. Ястребова



МИНСК, 2018

## СОДЕРЖАНИЕ

	<b>Вводная часть</b>	<b>3</b>
<b>1</b>	<b>Нормативные ссылки</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Метод измерений</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Точность измерений</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы</b>	<b>7</b>
<b>5</b>	<b>Требования безопасности и квалификации операторов</b>	<b>10</b>
5.1	Общие требования безопасности	10
5.2	Требования к квалификации операторов	10
<b>6</b>	<b>Требования к условиям измерений</b>	<b>10</b>
<b>7</b>	<b>Условия хранения набора реагентов</b>	<b>11</b>
<b>8</b>	<b>Подготовка к выполнению измерений</b>	<b>11</b>
8.1	Приготовление растворов	11
8.2	Отбор образцов и подготовка проб	12
8.3	Приготовление раствора пробы	13
8.4	Подготовка набора реагентов к выполнению измерений	13
8.5	Подготовка планшетов	13
<b>9</b>	<b>Выполнение измерений</b>	<b>14</b>
<b>10</b>	<b>Обработка результатов измерений</b>	<b>16</b>
10.1	Построение градуировочного графика	16
10.2	Расчет массовой доли дезоксиниваленола	16
<b>11</b>	<b>Форма представления результатов измерений</b>	<b>17</b>
<b>12</b>	<b>Контроль точности результатов измерений</b>	<b>18</b>
12.1	Контроль результатов, полученных в условиях повторяемости	18
12.2	Контроль результатов, полученных в промежуточных условиях прецизионности с изменяющимся фактором «время+оператор»	18
12.3	Контроль правильности	19
12.4	Контроль стабильности результатов измерений с использованием контрольных карт Шухарта (ККШ)	21
	<b>Библиография</b>	<b>24</b>



## **Вводная часть**

Настоящая методика выполнения измерений (далее – МВИ) устанавливает методику выполнения измерений дезоксиниваленола в зерне (пшеница, рожь, тритикале, ячмень, рис, овес, просо, гречиха, кукуруза), зернобобовых (горох, фасоль, нут, чечевица, маш, чина, вика, люпин) и масличных культурах (soя, рапс, подсолнечник, лен), продуктах их переработки: мукомольно-крупяных (мука, крупы, отруби, мучки), макаронных, хлебобулочных и мучных кондитерских изделиях, продукции масложировой промышленности (жмыхи, шроты), кормовой продукции пивоваренной промышленности, а также в кормах, комбикормах и глютенах методом прямого конкурентного иммуноферментного анализа с применением набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ», производства Института биоорганической химии НАН Беларуси [1].

МВИ позволяет выполнять измерения массовой доли дезоксиниваленола в диапазоне измерений от 0,20 до 6,00 мг/кг.

Предел измерений (LOQ) определяется значением величины нижней границы диапазона измерений.

Настоящая МВИ разработана в соответствии с ГОСТ 8.010.

## **1 Нормативные ссылки**

1.1 В настоящей МВИ использованы ссылки на следующие технические нормативные правовые акты в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА):

ГОСТ 8.010-2013 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений. Основные положения

ГОСТ 12.0.004-90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

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

ГОСТ 12.1.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

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

ГОСТ 12.4.009-83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание



ГОСТ 12.4.021-75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4780-80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118 -77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 13496.0-2016 Комбикорма, сырьё. Методы отбора проб

ГОСТ 13586.3-2015 Зерно. Правила приемки и отбора проб

ГОСТ 13979.0-86 Жмыхи, шроты и горчичный порошок. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ OIML 76-1-2011 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования испытания

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

ГОСТ 27668-88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб

ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

СТБ 1036-97 Продукты пищевые и продовольственное сырьё. Методы отбора проб для определения показателей безопасности

СТБ 1499-2004 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

СТБ ИСО 5725-3-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 3. Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений

СТБ ИСО 5725-4-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4. Основные методы определения правильности стандартного метода измерений

СТБ ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

Примечание – При пользовании МВИ целесообразно проверить действие ТНПА по каталогу, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененными (измененными) ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.



## 2 Метод измерений

2.1 При выполнении измерений массовой доли дезоксиниваленола применяют набор реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ», действие которого основано на принципе прямого конкурентного иммуноферментного анализа.

Микотоксины экстрагируют из анализируемых образцов дистиллированной водой, подготовленные пробы и градуировочные растворы смешивают с раствором конъюгата в планшете для смешивания и переносят в иммуносорбент. В лунках планшетного иммуносорбента конъюгат дезоксиниваленола с ферментом – пероксидазой из корней хрена – конкурирует с дезоксиниваленолом в составе градуировочных растворов или экстрактов анализируемых проб за связывание с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. После промывки, в ходе которой из лунок удаляют не прореагировавшие с антителами компоненты, к системе добавляют хромоген-субстратный раствор, который позволяет визуализировать реакции дезоксиниваленол-антитело. Связанный с антителами конъюгат фермента превращает хромоген в окрашенный продукт, при этом интенсивность окраски обратно пропорциональна массовой доле дезоксиниваленола. Реакцию окрашивания останавливают добавлением стоп-реагента. Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на микропланшетном фотометре как величину оптической плотности при длине волны 450 нм. По результатам измерений оптической плотности градуировочных растворов с известной массовой долей дезоксиниваленола строят градуировочную зависимость, с помощью которой определяют массовую долю дезоксиниваленола в анализируемых образцах.

## 3 Точность измерений

3.1 Настоящая МВИ обеспечивает получение результатов измерений массовой доли дезоксиниваленола с показателями точности и расширенной неопределенностью при принятой доверительной вероятности  $P = 95\%$  в указанном выше диапазоне измерений. Данные приведены в таблицах 1 и 2.



Таблица 1 – Относительные значения показателя повторяемости  $\sigma_r$ , показателя промежуточной прецизионности  $\sigma_{I(TO)}$  с изменяющимся фактором «время+оператор» измерений массовой доли дезоксиниваленола при доверительной вероятности  $P = 0,95$

Измеряемая величина	Диапазон измерений, мг/кг	Группы продуктов	Повторяемость $\sigma_r$ , %	Промежуточная прецизионность $\sigma_{I(TO)}$ , %
Массовая доля дезоксиниваленола	от 0,20 до 6,00 включ.	Зерно и мучные кондитерские изделия, мукомольно-крупяные и хлебобулочные изделия, зернобобовые культуры	8,5	10,5
		Продукты масложировой промышленности, глютен, масличные культуры, корма	11,2	13,2

В результате оценки показателя правильности для данной МВИ была установлена незначимость смещения для всех видов продукции во всем диапазоне измерений по МВИ, за исключением продуктов масложировой промышленности и глютенов, масличных культур, кормов.

Статистическая значимость смещения учтена при оценивании неопределенности измерений массовой доли дезоксиниваленола в продуктах масложировой промышленности и глютенах, масличных культурах, кормах с использованием набора реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ».



Таблица 2 – Относительные значения предела повторяемости  $r$ , предела промежуточной прецизионности с изменяющимся фактором «время+оператор»  $r_{(TQ)}$ , относительного норматива контроля правильности  $K$  и относительной расширенной неопределенности  $U$  измерений массовой доли дезоксиниваленола с уровнем доверия  $P = 0,95$

Измеряемая величина	Диапазон измерений, мг/кг	Группы продуктов	Предел повторяемости $r$ , %	Предел промежуточной прецизионности с изменяющимся фактором «время+оператор» $r_{(TQ)}$ , %	Норматив контроля правильности, $K$ , %	Относительная расширенная неопределенность $U$ , % $K = 2, P = 95 \%$
Массовая доля дезоксиниваленола	от 0,20 до 6,00 включ.	Зерно и мучные кондитерские изделия, мукомольно-крупяные и хлебобулочные изделия, зернобобовые культуры	23,9	29,3	17,9	20,0
		Продукты масложировой промышленности, глютен, масличные культуры, корма	31,3	37,1	36,4	30,0

3.2 Указанные в таблицах 1, 2 метрологические характеристики оценивались на основании данных, полученных в эксперименте в соответствии с:

- показатели прецизионности – СТБ ИСО 5725-3;
- показатели правильности – СТБ ИСО 5725-4;
- оценивание неопределенности – [2], [3], [9].

#### 4 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

4.1 При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы.

4.1.1 Автоматический микропланшетный фотометр, позволяющий измерять оптическую плотность раствора при длине волны 450 нм, с пределом допускаемой погрешности измерения оптической плотности не более 5 %.

4.1.2 Компьютер с предустановленной программой Microsoft Office Excel версии 98 и выше для обработки результатов.



4.1.3 Весы лабораторные высокого II класса точности с наибольшим пределом взвешивания не более 200 г и погрешностью взвешивания не более  $\pm 0,1$  г по ГОСТ OIML 76-1.

4.1.4 Водяная баня типа GFL 1012, обеспечивающая температуру нагрева  $(39 \pm 2)$  °С.

4.1.5 Гомогенизатор лабораторный типа TissueRuptor производства QIAGEN Group (Германия) или бытовой блендер.

4.1.6 Лабораторный встряхиватель, обеспечивающий частоту вращения до 300 об/мин.

4.1.7 Магнитная мешалка, частота вращения до 500 об/мин.

4.1.8 Мельница лабораторная, обеспечивающая измельчение с размером частиц не более 1 мм.

4.1.9 Восьмиканальный дозатор с диапазоном объема дозирования от 5 до 300 мм<sup>3</sup> с шагом 1,0 мм<sup>3</sup> и погрешностью дозирования не более 3 % со сменными одноразовыми наконечниками.

4.1.10 Одноканальные дозаторы переменного объема с диапазоном дозирования объемов: от 20 до 200 мм<sup>3</sup> с шагом 1,0 мм<sup>3</sup> и погрешностью дозирования не более  $\pm 1,5$  %, от 100 до 1000 мм<sup>3</sup> с шагом 5,0 мм<sup>3</sup> и погрешностью дозирования не более  $\pm 1,5$  % со сменными одноразовыми наконечниками соответствующего объема.

4.1.11 Сита лабораторные для мукомольной промышленности с номинальным размером круглого отверстия в свету или квадратного отверстия сетки 1 мм по [4].

4.1.12 Секундомер электронный по [5].

4.1.13 Термостат, обеспечивающий температуру от 20 °С до 25 °С.

4.1.14 Холодильник бытовой, позволяющий поддерживать температуру от плюс 2 °С до плюс 8 °С в холодильной камере и не выше минус 18 °С в морозильной камерой по СТБ 1499.

4.1.15 Воронки стеклянные по ГОСТ 25336.

4.1.16 Колбы конические Кн-1-100-29/32 ТС по ГОСТ 25336.

4.1.17 Стаканы В1-1-100; В1-1-250; В1-1-500 по ГОСТ 25336.

4.1.18 Пробирки П-2-10-14/23 по ГОСТ 1770.

4.1.19 Пипетки 1-1-1-5; 1-1-1-25 по ГОСТ 29277.

4.1.20 Фильтры обеззоленные «белая лента» по [6].

4.1.21 Цилиндры 1-50-1; 1-100-1; 1-500-1 по ГОСТ 1770.

4.1.22 Бумага индикаторная универсальная по [7].



4.1.23 Стеклянные емкости с плотно закрывающимися крышками вместимостью 250 и 100 см<sup>3</sup>.

4.1.24 Пленка «парафильм» или скотч.

4.1.25 Чашки Петри стеклянные многоразовые диаметр 100 мм, высота 15 мм или кюветы для дозирования жидких реагентов при использовании многоканальной пипетки.

4.1.26 Штатив для пробирок.

4.1.27 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

4.1.28 Кислота соляная х.ч. (плотность 1,19 г/см<sup>3</sup>, массовая доля HCl 38,3 %) по ГОСТ 3118.

4.1.29 Натрия гидроокись х.ч. по ГОСТ 4328.

4.1.30 Флаконы из пластмассы вместимостью 20 см<sup>3</sup> с завинчивающейся крышкой по [8].

4.2 Набор реагентов «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ» [1] производства ИБОХ НАН Беларуси (далее – набор) в стандартной комплектации:

- иммуносорбент, 96-луночный полистирольный планшет, 12 стрипов по восемь лунок, с иммобилизованным антителом, один планшет;

- планшет для смешивания, 96-луночный полистирольный планшет, 12 стрипов по восемь лунок, один планшет;

- градуировочный раствор C<sub>0</sub> с массовой долей дезоксиниваленола 0,00 мг/кг, объемом 0,7 см<sup>3</sup>;

- градуировочный раствор C<sub>1</sub> с массовой долей <sup>1)</sup> дезоксиниваленола 0,20 мг/кг, объемом 0,7 см<sup>3</sup>;

- градуировочный раствор C<sub>2</sub> с массовой долей <sup>1)</sup> дезоксиниваленола 0,60 мг/кг, объемом 0,7 см<sup>3</sup>;

- градуировочный раствор C<sub>3</sub> с массовой долей <sup>1)</sup> дезоксиниваленола 2,00 мг/кг, объемом 0,7 см<sup>3</sup>;

- градуировочный раствор C<sub>4</sub> с массовой долей <sup>1)</sup> дезоксиниваленола 6,00 мг/кг, объемом 0,7 см<sup>3</sup>;

- конъюгат, 21-кратный концентрат, объемом 1 см<sup>3</sup>;

- промывочный раствор, 10-кратный концентрат, объемом 30 см<sup>3</sup>;

- раствор для разведения конъюгата, объемом 14 см<sup>3</sup>;

- раствор ТМБ<sup>2)</sup>, объемом 0,7 см<sup>3</sup>;

<sup>1)</sup> Для градуировочных растворов установлена условная массовая доля. Действительные значения величин концентраций градуировочных растворов, входящих в комплект поставки, учитывают фактический коэффициент разбавления пробы, равный 20, который получают в результате процедуры пробоподготовки. Этот факт позволяет находить значение массовой доли дезоксиниваленола в анализируемом образце по результату измерений массовой доли дезоксиниваленола в подготовленном растворе пробы, полученному сразу по градуировочной кривой.



- субстратный буферный раствор<sup>2)</sup>, объемом 14 см<sup>3</sup>;
- стоп-реагент, объемом 14,0 см<sup>3</sup>.

Допускается применять другие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы, с характеристиками, не уступающими указанным в п. 4.1.

## **5 Требования безопасности и квалификации операторов**

### **5.1 Общие требования безопасности**

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реагентами и правила общей техники безопасности при работе в химической лаборатории согласно ГОСТ 12.1.007.

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования электробезопасности по ГОСТ 12.1.019.

Помещение, в котором выполняют отбор проб, измерения, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021, пожарной сигнализацией и пожаротушения по ГОСТ 12.4.009 и соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004

Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

Организация обучения работающих безопасности труда осуществляется по ГОСТ 12.0.004.

### **5.2 Требования к квалификации операторов**

К выполнению измерений и обработке результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или среднее специальное образование, владеющие техникой постановки иммуноферментного анализа и освоившие выполнение измерений по настоящей МВИ.

## **6 Требования к условиям измерений**

6.1 При отборе проб и выполнении измерений в лаборатории должны соблюдаться следующие условия:

6.1.1 Температура окружающего воздуха от плюс 20 °С до плюс 25 °С.

6.1.2 Относительная влажность воздуха не более 80 % при температуре плюс 25 °С.

<sup>2)</sup> В случае поставки хромоген-субстратного раствора в готовом к использованию виде компонентом набора является хромоген-субстратный раствор, объемом 14 см<sup>3</sup>



## 7 Условия хранения набора реагентов

7.1 Набор должен храниться в упаковке изготовителя при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание целого набора и отдельных компонентов не допускается.

7.2 Промывочный раствор, градуировочные растворы, конъюгат, раствор для разведения конъюгата, а также субстратный буферный раствор, раствор ТМБ и стоп-реагент после вскрытия флаконов и последующей укупорки можно хранить при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение срока годности набора.

7.3 Неиспользованные стрипы иммуносорбента следует хранить упакованными в плотно закрытом фольгированном пакете при температуре окружающего воздуха от плюс 2 °С до плюс 8 °С.

## 8 Подготовка к выполнению измерений

### 8.1 Приготовление растворов

#### 8.1.1 Приготовление 20 %-го раствора натрия гидроокиси

Взвешивают  $(10,0 \pm 0,1)$  г натрия гидроокиси в стакане вместимостью 100 см<sup>3</sup> и растворяют в 40 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. После охлаждения до комнатной температуры раствор переносят в полиэтиленовую емкость с плотно закрывающейся крышкой.

#### 8.1.2 Приготовление 1М раствора соляной кислоты

В стакан вместимостью 100 см<sup>3</sup> цилиндром приливают 88 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 8 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты, тщательно перемешивают. После охлаждения до комнатной температуры раствор переносят в стеклянную емкость с притертой пробкой.

#### 8.1.3 Приготовление рабочего раствора конъюгата

Рабочий раствор конъюгата готовят в пробирке или флаконе, разбавляя концентрат конъюгата в 21 раз раствором для разведения конъюгата в соотношении 1:20.

Объем рабочего раствора конъюгата должен быть приготовлен из расчета 150 мм<sup>3</sup> рабочего раствора конъюгата на каждую лунку.

Рабочий раствор конъюгата перемешивают круговыми движениями, не допуская образования пены. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

#### 8.1.4 Приготовление хромоген-субстратного раствора

Хромоген-субстратный раствор готовят в темных пластмассовых флаконах непосредственно перед использованием. Приготовленный раствор хранению не подлежит.



Для приготовления хромоген-субстратного раствора раствор ТМБ разводят субстратным буферным раствором в 21 раз (ТМБ:субстратный буферный раствор = 1:20) из расчета 100 мм<sup>3</sup> на каждую из заданного количества лунок. Для этого в чистый флакон вместимостью 20 см<sup>3</sup> вносят необходимое количество субстратного буферного раствора, добавляют соответствующее количество раствора ТМБ и интенсивно перемешивают в течение от 30 до 40 с.

Приготовленный или поставленный в набор хромоген-субстратный раствор необходимо предохранять от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Перед использованием раствор должен быть бесцветным. Посуду, которая будет в ходе реакции контактировать с этим раствором, отмывают без применения синтетических моющих средств. Используют только новые наконечники.

#### 8.1.5 Приготовление рабочего промывочного раствора

Содержимое флакона с концентратом промывочного раствора интенсивно встряхивают в течение (10-20) с, в случае образования кристаллов помещают флакон на водяную баню или термостат при температуре 37 °С и выдерживают до полного растворения кристаллов.

Разводят нужный объем раствора в 10 раз (соотношение по объему 1+9) дистиллированной водой. Для этого мерным цилиндром отбирают необходимый объем концентрата, заданный количеством используемых стрипов, переносят в стеклянный стакан, приливают необходимый объем дистиллированной воды и перемешивают полученный рабочий раствор на магнитной мешалке.

Срок хранения раствора при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С – 1 мес.

#### 8.2 Отбор образцов и подготовка проб

8.2.1 Отбор образцов проводят по СТБ 1036, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 27668, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13979.0.

Образцы хранят в герметичных пакетах при температуре от плюс 2 °С до плюс 25 °С и относительной влажности не более 80 % - 3 нед. или в замороженном виде при температуре минус 18 °С – 6 мес в условиях, исключаящих изменение влажности. Перед проведением подготовки проб замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от плюс 2 °С до плюс 4 °С.

8.2.2 Исследуемый образец выдерживают при комнатной температуре и доводят температуру образца от плюс 20 °С до плюс 25 °С.



Образцы зерна, зернобобовых, масличных, макаронных, крупяных изделий, продуктов переработки зерновых (отруби, жмыхи, шроты), кормов измельчают с помощью лабораторной мельницы, просеивают через лабораторное сито с отверстиями диаметром 1 мм и тщательно перемешивают.

Остаток образца на сите снова измельчают на мельнице лабораторной так, чтобы он весь прошел через сито с отверстиями диаметром 1 мм, добавляют к просеянной части и тщательно перемешивают.

Образцы хлебобулочных и мучных кондитерских изделий измельчают с помощью гомогенизатора или бытового блендера, перемешивают, образцы мукомольных изделий, глютенны – тщательно перемешивают.

### 8.3 Приготовление раствора пробы

8.3.1 При анализе каждого образца выполняют два параллельных определения.

Взвешивают  $(5,0 \pm 0,1)$  г размолотого образца, приготовленного по п.8.2.2. Навеску исследуемой пробы помещают в коническую колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$  и цилиндром добавляют  $100 \text{ см}^3$  дистиллированной воды.

8.3.2 Коническую колбу закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, интенсивно встряхивают вручную или на встряхивателе в течение 7 мин. Колбы выдерживают не менее 20 мин для осаждения частиц пробы, затем быстро фильтруют от 10 до  $15 \text{ см}^3$  верхнего слоя каждого раствора через фильтр «белая лента» в пробирки.

Контроль pH фильтрата проводят по универсальной индикаторной бумаге, доводя до значения 6-8, используя 1 М раствор соляной кислоты или 20 %-ый раствор гидроксида натрия.

Профильтрованный раствор перемешивают, пробирку закрывают пробкой и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

### 8.4 Подготовка набора реагентов к выполнению измерений

Перед проведением измерений набор реагентов извлекают из холодильника и выдерживают при температуре от плюс  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  до плюс  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  в течение от 0,5 до 1,0 ч.

Перед использованием все растворы из набора легко встряхивают в течение 10 с, избегая разбрызгивания и образования пены.

### 8.5 Подготовка планшетов

Составляют схему расположения лунок для градуировочных растворов и растворов проб в планшетах согласно рисунку 1 с учетом того, что для каждого градуировочного раствора и раствора пробы требуется две лунки.



Лунка в стрипе	Номер стрипа											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C <sub>0</sub>	C <sub>0</sub>	П <sub>4</sub>	П <sub>4</sub>								
B	C <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	П <sub>5</sub>	П <sub>5</sub>								
C	C <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	П <sub>6</sub>	П <sub>6</sub>								
D	C <sub>3</sub>	C <sub>3</sub>	П <sub>7</sub>	П <sub>7</sub>								
E	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>	П <sub>8</sub>	П <sub>8</sub>								
F	П <sub>1</sub>	П <sub>1</sub>	П <sub>9</sub>	П <sub>9</sub>								
G	П <sub>2</sub>	П <sub>2</sub>	П <sub>10</sub>	П <sub>10</sub>								
H	П <sub>3</sub>	П <sub>3</sub>	П <sub>11</sub>	П <sub>11</sub>								

C<sub>0</sub> – C<sub>4</sub> – градуировочные растворы в лунках A1-E1 стрипа №1 и A2-E2 стрипа №2.

П<sub>1</sub> – П<sub>11</sub> – растворы проб в лунках F-H стрипов №1 и №2 и в лунках A-H стрипов №3 и №4.

Рисунок 1 – Схема расположения лунок

В одной постановке анализа используют не более четырех стрипов.

В рамку планшета разборного – иммуносорбента – устанавливают необходимое количество стрипов с иммобилизованными антителами.

В рамку планшета для смешивания устанавливают соответствующее количество стрипов.

Неиспользованные стрипы иммуносорбента возвращают в фольгированный пакет, заклеивают липкой лентой и помещают в холодильник.

## 9 Выполнение измерений

9.1 В чашку Петри или пластмассовую кювету вносят конъюгат в объеме из расчета 1,3 см<sup>3</sup> на стрип.

Восьмиканальным дозатором отбирают 150 мм<sup>3</sup> конъюгата, приготовленного согласно п.8.1.3, и вносят в лунки планшета для смешивания (допускается использование одноканального дозатора). Затем в соответствующие лунки планшета для смешивания, размеченного согласно п. 8.5, одноканальным дозатором вносят по 50 мм<sup>3</sup> каждого градуировочного раствора и аликвоты объемом 50 мм<sup>3</sup> двух параллельных растворов проб каждого исследуемого образца.

9.2 Растворы в лунках перемешивают восьмиканальным дозатором, три раза пипетируя раствор вверх и вниз, не допуская образования пены. Для каждого стрипа используют чистые наконечники.



Немедленно после перемешивания отбирают из планшета для смешивания восьмиканальным дозатором и вносят в соответствующие лунки иммуносорбента – планшета разборного с иммобилизованными антителами по  $100 \text{ мм}^3$  градуировочных растворов и растворов проб вместе с конъюгатом.

Примечание:

-- Временной интервал от начала перемешивания до начала инкубации не более 5 мин.

9.3 Закрывают планшет пленкой или скотчем, крышкой и инкубируют в течение 30 мин в термостате или на воздухе способом, исключающим попадание света, при температуре от плюс  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  до плюс  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

9.4 По окончании времени инкубации удаляют растворы из всех лунок путем резкого переворачивания планшета.

В пластмассовую кювету для промывочного раствора вносят рабочий промывочный раствор по п. 8.1.5 в объеме из расчета  $200 \text{ мм}^3$  на одну промывку при четырехкратном промывании каждой лунки.

Затем с применением восьмиканального дозатора проводят четырехкратное промывание планшета промывочным раствором порциями по  $200 \text{ мм}^3$  на одно промывание каждой лунки.

При промывании планшета: контролируют заполнение всех лунок и полное удаление промывочного раствора; не допускают переполнения лунок и перетекания промывочного раствора между ними; выдерживают лунки, заполненные промывочным раствором, не менее 10 с.

Остатки промывочного раствора удаляют, постукивая планшетом по ровной поверхности, покрытой фильтровальной бумагой.

9.5 В чашку Петри или пластмассовую кювету вносят хромоген-субстратный раствор, приготовленный по п. 8.1.4, в объеме из расчета  $1 \text{ см}^3$  на стрип.

В каждую лунку промытого планшета восьмиканальным дозатором вносят  $100 \text{ мм}^3$  хромоген-субстратного раствора. Общее время внесения должно быть не более 2 мин. Закрывают планшет пленкой или скотчем, крышкой и инкубируют в течение 15 мин в термостате или на воздухе способом, исключающим попадание света, при температуре от плюс  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  до плюс  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

9.6 В чашку Петри или пластмассовую кювету дозатором вносят стоп-реагент в объеме из расчета  $1 \text{ см}^3$  на стрип.

По истечении времени инкубации в каждую лунку планшета восьмиканальным дозатором вносят  $100 \text{ мм}^3$  стоп-реагента.



Растворы в лунках перемешивают круговыми движениями планшета по поверхности лабораторного стола.

9.7 В течение не более 15 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке на микропланшетном фотометре при длине волны 450 нм.

## 10 Обработка результатов измерений

### 10.1 Построение градуировочного графика

Обработка результатов измерений проводится с применением прилагаемого шаблона в формате Microsoft Excel (диск с шаблоном для обсчета получаемых данных поставляется изготовителем потребителю).

В соответствующие графы шаблона вносят полученные в условиях повторяемости результаты измерения оптической плотности градуировочных растворов  $C_0 - C_4$  и растворов образца.

Программа Excel с применением прилагаемого шаблона автоматически рассчитывает процент связывания для градуировочных растворов  $C_1 - C_4$  и для раствора пробы относительно градуировочного раствора  $C_0$  с массовой долей 0,0 мг/кг дезоксиниваленола:

$$\frac{V_i}{V_0} \cdot 100 \%, \frac{V_p}{V_0} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

где  $V_0$  – средняя оптическая плотность градуировочного раствора  $C_0$ , ЕОП;  
 $V_i$  – средняя оптическая плотность  $i$ -го градуировочного раствора ( $i = 1, 2, 3, 4$ ), ЕОП;

$V_p$  – оптическая плотность раствора пробы, ЕОП.

### 10.2 Расчет массовой доли дезоксиниваленола

Программа Excel с применением прилагаемого шаблона на основании внесенных оператором значений оптической плотности для каждого градуировочного раствора автоматически строит градуировочный график зависимости  $V_i/V_0, \%$  (ось ординат), от натурального логарифма концентрации  $C_i$  (ось абсцисс), где:

$V_i$  – среднее значение оптической плотности для  $i$ -го градуировочного раствора, ЕОП;

$V_0$  – среднее значение оптической плотности для градуировочного раствора  $C_0$ , ЕОП;

$C_i$  – массовая доля дезоксиниваленола в градуировочном растворе, выраженная в мг/кг.

Программа автоматически рассчитывает на основании градуировочного графика массовую долю дезоксиниваленола, мг/кг, в



исследуемых пробах после внесения оператором значений оптической плотности, в ЕОП, в соответствующие графы таблицы раздела 2 прилагаемого шаблона.

За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух измерений, выполненных в условиях повторяемости

$$\bar{C} = \frac{C_1 + C_2}{2}, \quad (2)$$

где  $\bar{C}$  – среднее арифметическое значение результатов двух измерений, мг/кг;  
 $C_1$  и  $C_2$  – значения результатов двух измерений, мг/кг.

Окончательный результат измерений округляют до второго десятичного знака.

$\bar{C}$  принимают за окончательный результат, если выполняется неравенство:

$$|C_1 - C_2| \leq 0,01 \cdot \bar{C} \cdot r, \quad (3)$$

где  $r$  – относительное значение предела повторяемости согласно таблице 2, %.

Если соотношение (3) не выполняется, испытания пробы необходимо повторить.

## 11 Форма представления результатов измерения

Окончательный результат измерений массовой доли дезоксиниваленола  $\bar{C}$  представляют в виде

$$\bar{C} \pm U_{abc}, \text{ мг/кг.} \quad (4)$$

Значение расширенной неопределенности  $U_{abc}$ , мг/кг, рассчитывают по формуле

$$U_{abc} = 0,01 \cdot \bar{C} \cdot U, \quad (5)$$

где  $U$  – относительная расширенная неопределенность, %, согласно таблице 2.

Если окончательный результат измерений оказывается меньше значения нижней границы соответствующего диапазона измерений, то вычисление массовой доли дезоксиниваленола не проводится, а дается односторонняя оценка массовой доли дезоксиниваленола  $C$ , мг/кг, в виде

$$C < C_{LOQ}, \quad (6)$$

где  $C_{LOQ}$  – значение нижней границы соответствующего диапазона измерений согласно таблице 1.

Если конечный результат измерений оказывается больше, чем значение верхней границы диапазона измерений  $C_{HI}$ , то дается односторонняя оценка



массовой доли дезоксиниваленола в образце с использованием значения верхней границы диапазона измерений в мг/кг.

$$C > C_{HL}, \quad (7)$$

где  $C_{HL}$  – значение верхней границы диапазона измерений, приведенное в таблице 1.

## 12 Контроль точности результатов измерений

12.1 Контроль результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Оперативный контроль результатов проводят в соответствии с СТБ ИСО 5725-6.

Расхождение между параллельными результатами измерений одного образца, полученное в условиях повторяемости при доверительной вероятности  $P = 0,95$ , должно удовлетворять условию

$$|C_1 - C_2| \leq 0,01 \cdot \bar{C} \cdot r, \quad (8)$$

где  $C_1$  и  $C_2$  – значения результатов двух параллельных измерений, мг/кг;

$\bar{C}$  – среднее арифметическое результатов двух измерений, мг/кг;

$r$  – относительное значение предела повторяемости согласно таблице 2, %.

Если условие (8) не выполняется, то измерения необходимо повторить.

12.2 Контроль результатов, полученных в промежуточных условиях прецизионности с изменяющимся фактором «время+оператор»

Контроль проводят в соответствии с СТБ ИСО 5725-6.

Критическая разность CD для измерений, полученных лабораторией в промежуточных условиях прецизионности при соблюдении условий повторяемости при доверительной вероятности  $P=0,95$  рассчитывается по формуле

$$CD = \sqrt{r^2 I_{(TO)} - \frac{r^2}{2}}. \quad (9)$$

Расхождение между средними значениями, рассчитанными по двум параллельным результатам измерений одного образца, полученное в промежуточных условиях прецизионности при доверительной вероятности  $P=0,95$  должно удовлетворять условию

$$| \bar{C}_1 - \bar{C}_2 | \leq 0,01 \cdot \bar{C} \cdot CD, \quad (10)$$

где  $\bar{C}_1$  и  $\bar{C}_2$  – средние значения результатов измерения, полученные в промежуточных условиях прецизионности, рассчитаны по формуле (2), мг/кг;

$\bar{C}$  – среднее арифметическое результатов измерений, полученных в промежуточных условиях прецизионности, мг/кг;



$r_{I(TO)}$  – относительное значение предела промежуточной прецизионности с изменяющимся фактором «время+оператор» согласно таблице 2, %.

Если условие (10) не выполняется, то один результат или оба являются неверными и измерения необходимо повторить.

### 12.3 Контроль правильности

Контроль правильности проводят в соответствии с СТБ ИСО 5725-6.

12.3.1 Количественная оценка применения лабораторией данного метода измерений проводится внутри лаборатории на основании оценки лабораторного смещения посредством сравнения результатов измерений с принятым эталонным значением образца сравнения, массовая доля которого должна находиться в диапазоне измерений МВИ. В качестве образца сравнения может быть использован референтный материал, естественно контаминированный микотоксинами, с сертифицированным значением (например, образцы Trilogy® Analytical laboratory, США) или образец, в котором массовая доля дезоксиниваленола установлена на основании межлабораторного сличительного эксперимента. При этом в качестве образца должны быть выбраны матрицы, для которых установлена незначимость смещения: зерно и мучные кондитерские изделия, мукомольно-крупяные и хлебобулочные изделия, зернобобовые культуры.

Результат контроля правильности признают положительным, если в лаборатории при выполнении двух параллельных измерений выполняется условие

$$|X - \mu| < 2\sqrt{\sigma_{I(TO)(abc)}^2 - \frac{\sigma_r^2(abc)}{2}}, \quad (11)$$

$$\sigma_{I(TO)(abc)} = \frac{\sigma_{I(TO)} \cdot X}{100}, \quad (12)$$

$$\sigma_r(abc) = \frac{\sigma_r \cdot X}{100}, \quad (13)$$

где  $X$  – результат измерения, полученный в оцениваемой лаборатории, мг/кг;  
 $\mu$  – сертифицированное значение образца сравнения, мг/кг;

$\sigma_r$ ,  $\sigma_{I(TO)}$  – относительные значения показателей повторяемости и показателя промежуточной прецизионности с изменяющимся фактором «время+оператор» согласно таблице 1.

Если неравенство (11) не выполняется, то измерения необходимо повторить. При невыполнении неравенства необходимо выяснить и устранить причины невыполнения неравенства (11) и повторить измерения.

12.3.2 В случае отсутствия эталонного образца сравнения оценка смещения может производиться путем анализа образцов для контроля (ОК) с



заранее известным значением массовой доли дезоксиниваленола (рабочая проба с добавкой).

Данные образцы для контроля представляют собой навеску пробы, массовая доля дезоксиниваленола в которой менее предела измерения данной МВИ, в которую внесена добавка.

Неопределенность значения массовой доли дезоксиниваленола в ОК не должна превышать одной трети от значения неопределенности измерений.

Контроль правильности проводится с использованием добавок дезоксиниваленола. Величина массовой доли дезоксиниваленола в пробе с добавкой должна находиться в диапазоне измерений. Для внесения добавки используется раствор, приготовленный из дезоксиниваленола в соответствии с рекомендациями производителя. Допускается использовать готовые растворы для добавки (spike-растворы) дезоксиниваленола, при условии, что относительная стандартная неопределенность концентрации дезоксиниваленола в них не превышает 3 %.

В качестве образца должны быть выбраны матрицы, для которых установлена значимость смещения: продукты масложировой промышленности, глютен, масличные культуры, корма.

Добавка вносится непосредственно в пробирки с навеской проб. Из пробы отбирают шесть навесок. В каждую навеску вносят добавку дезоксиниваленола. Массовую долю  $X_{REF}$ , мг/кг, соответствующую добавке, рассчитывают по формуле

$$X_{REF} = \frac{C_m \cdot V_m}{m_{np}}, \quad (14)$$

где  $C_m$  – концентрация добавленного раствора дезоксиниваленола, мкг/см<sup>3</sup>;

$V_m$  – объем добавленного раствора дезоксиниваленола, см<sup>3</sup>;

$m_{np}$  – масса пробы с добавленным раствором дезоксиниваленола, г;

$X_{REF}$  – установленное значение массовой доли дезоксиниваленола, мг/кг.

В условиях повторяемости получают шесть результатов измерения массовой доли дезоксиниваленола в пробе с добавкой  $C_i$ .

За результат контрольного измерения  $\bar{C}_k$ , мг/кг, принимают:

- при проведении контрольной процедуры результат измерения массовой доли дезоксиниваленола в ОК, рассчитанный по формуле (15) при выполнении условия повторяемости по п. 12.1 с использованием вместо относительного предела повторяемости  $r$ , приведенного в таблице 2, значения  $1,43 \cdot r$ .



$$\bar{C}_k = \frac{\sum_{i=1}^6 C_i}{6}, \quad (15)$$

где  $C_i$  –  $i$ -ый результат измерений ОК, мг/кг.

Критерием приемлемости является условие

$$|\bar{C}_k - X_{REF}| \leq 0,01 \cdot K_{отн} \cdot \bar{C}_k, \quad (16)$$

где  $K_{отн}$  – относительный норматив контроля правильности, %, приведенный в таблице 2.

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

12.4 Контроль стабильности результатов измерений с использованием контрольных карт Шухарта (ККШ).

Контроль стабильности результатов измерений массовой доли дезоксиниваленола и интерпретация результатов осуществляется по показателям повторяемости  $\sigma_r$  и промежуточной прецизионности  $\sigma_{I(ГО)}$  с использованием контрольных карт Шухарта в соответствии с СТБ ИСО 5725-6 и [10].

Применение ККШ основано на сопоставлении результатов контрольных процедур с установленными нормативами контроля: пределами регулирования, устанавливаемыми при доверительной вероятности  $P = 0,997$ , и пределами предупреждения, устанавливаемыми при доверительной вероятности  $P = 0,95$ .

Число контрольных процедур в течение временного диапазона устанавливается в документах системы менеджмента качества лаборатории.

ККШ для каждого из контролируемых показателей качества результатов анализа строят по результатам измерений массовой доли дезоксиниваленола в исследуемых образцах по рассчитанным величинам размахов по формулам (17), (18). В работе участвуют два аналитика.

Всего строится две ККШ: одна – для контроля стабильности результатов измерений массовой доли дезоксиниваленола по показателям повторяемости  $\sigma_r$ , другая – для контроля стабильности результатов измерений массовой доли дезоксиниваленола по показателю промежуточной прецизионности  $\sigma_{I(ГО)}$ . Алгоритм построения ККШ для двух контрольных измерений следующий:

- 1) На контрольных картах размаха и промежуточной прецизионности наносят следующие горизонтальные линии:



центральные линии	$CL_r = 1,128 \cdot 0,01 \cdot \sigma_r$	$CL_{r(tO)} = 1,128 \cdot 0,01 \cdot \sigma_{r(tO)}$
границы предупреждения	$UCL_r = 2,834 \cdot 0,01 \cdot \sigma_r$ $LCL_r = \text{нет}$	$UCL_{r(tO)} = 2,834 \cdot 0,01 \cdot \sigma_{r(tO)}$ $LCL_{r(tO)} = \text{нет}$
границы регулирования	$UCL_r = 3,686 \cdot 0,01 \cdot \sigma_r$ $LCL_r = \text{нет}$	$UCL_{r(tO)} = 3,686 \cdot 0,01 \cdot \sigma_{r(tO)}$ $LCL_{r(tO)} = \text{нет}$

где  $\sigma_r$  и  $\sigma_{r(tO)}$  - относительные значения показателей повторяемости и промежуточной прецизионности с изменяющимся фактором «время+оператор» согласно таблице 1, %;

1,128; 2,834; 3,686 – коэффициенты для расчета центральной, предупреждающей, регулирующей границ ККШ (таблица 4 СТБ ИСО 5725-6);

2) Получают результаты контрольных измерений и рассчитывают результаты контрольных процедур относительных размахов:

а) в условиях повторяемости по формуле

$$r_k = \frac{C_1 - C_2}{\bar{C}}, \quad (17)$$

где  $C_1$  и  $C_2$  - результаты измерений массовой доли дезоксиниваленола, полученные в условиях повторяемости, мг/кг;

$\bar{C}$  – среднее значение двух результатов, полученных в условиях повторяемости, мг/кг.

б) в условиях промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами «время+оператор» по формуле

$$r_{k(tO)} = \frac{C_1 - C_2}{\bar{C}}, \quad (18)$$

где  $C_1$  и  $C_2$  – значения результатов измерения, полученные в промежуточных условиях прецизионности, мг/кг;

$\bar{C}$  – среднее значение результатов параллельных измерений массовой доли дезоксиниваленола в промежуточных условиях прецизионности, мг/кг.

3) Результаты контрольных процедур ( $r_k$ ,  $r_{k(tO)}$ ) наносят на ККШ, предназначенные для контроля повторяемости и промежуточной прецизионности. При заполнении ККШ по горизонтальной оси откладывают номер контрольной процедуры, по вертикальной оси – результаты контрольной процедуры.

При интерпретации ККШ сигналом к возможному нарушению стабильности процесса анализа может служить появление на ККШ следующих ситуаций:

- одна точка вышла за границу регулирования;
- девять точек подряд находятся в зоне выше половинной границы зоны предупреждения или по одну сторону от центральной линии;
- шесть возрастающих или убывающих точек подряд;



- четырнадцать попеременно убывающих и возрастающих точек;
- две из трех последовательных точек выше границы предупреждения;
- четыре из пяти последовательных точек выше половинной границы зоны предупреждения;
- пятнадцать последовательных точек в зоне регулирования выше или ниже центральной линии;
- восемь последовательных точек по обеим сторонам центральной линии и ни одной в зоне регулирования.

При появлении хотя бы одной из вышеперечисленных ситуаций проводят анализ и устранение причин несоответствий.



## Библиография

[1] ТУ ВУ 100185129.134-2015 Набор реагентов для определения дезоксиниваленола в кормах для животных, пищевой продукции и продовольственном сырье методом иммуноферментного анализа «ИФА-ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛ»

[2] «Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК по количественному описанию неопределенности в аналитических измерениях»

[3] VAM Project 3.2.1 Development and Measurement Uncertainty Principles Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data»

[4] ТУ 5149-001-56476476-02 Сита лабораторные контрольные металлотканые У1-ЕСЛ-К. Номенклатура

[5] ТУ РБ 100231303.011-2002 Секундомер электронный

[6] ТУ 2642-001-13927158-2003 Фильтры обеззоленные «Синяя лента», «Белая лента», «Красная лента»

[7] ТУ 6-09-1181-89 Бумага индикаторная универсальная для определения рН 1-10 и 7-14. Технические условия

[8] ТУ РБ 100626757.001-2003 Изделия пластмассовые для упаковки и укупорки лекарственных средств

[9] ISO 21748:2010 «Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценивании неопределенности измерения»

[10] ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты Шухарта

