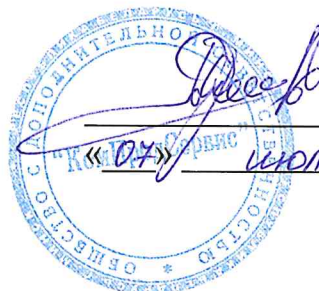


УТВЕРЖДАЮ
Директор
ОДО «КомПродСервис»



Д.Ч. Кучинский
«07» июля 2025 г.

Извещение об изменении № 2 МВИ.МН 2560-2006

Методика выполнения измерений количества фумонизина с использованием
тест-системы «Ридаскрин Фаст Фумонизин» в зерновых и зернобобовых
культурах и продуктах их переработки

Разработчик:

Заведующая лабораторией
ОДО «КомПродСервис»
М. А. Захаревич
«07» июля 2025 г.

15634

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора БелГИМ

Ю.С.Иванов

« 09 »

09

2025 г.

М.П.

ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по результатам метрологической экспертизы

Обозначение и наименование:

Извещение об изменении № 2 МВИ.МН 2560-2006 «Методика выполнения измерения количества фумонизина с использованием тест-системы «РИДАСКРИН ФАСТ ФУМОНИЗИН» в зерновых и зернобобовых культурах и продуктах их переработки»

Разработчик: ОДО «КомПродСервис»

На метрологическую экспертизу представлены следующие документы:

- 1 Извещение об изменении № 2 МВИ.МН 2560-2006.
- 2 План проведения эксперимента по оценке показателей точности проекта изменений № 2 МВИ.МН 2560-2006
- 3 Отчет об экспериментальных исследованиях метрологических характеристик для подтверждения вносимых измерений в МВИ.МН МВИ.МН 2560-2006.
- 4 Копия МВИ.МН 2560-2006 в редакции с изменением № 1.

По результатам метрологической экспертизы установлено:

1 Изменения в МВИ.МН 2560-2006, вносимые по извещению об изменении № 2, не затрагивают область применения и рабочие характеристики методики (метода) измерений (включая показатели точности измерений).

2 Замечания и предложения в части метрологических норм и требований отсутствуют.

Начальник отдела
испытаний пищевой
и сельскохозяйственной продукции

Н.В.Вошула

ОДО «КомПродСервис»		Извещение № 2		Обозначение документа МВИ.МН 2560-2006			
Дата выпуска		Срок изменения			Лист 2	Листов 24	
ПРИЧИНА		Применение методики при использовании тест-системы «Ридаскрин Фаст Фумонизин»				КОД	
УКАЗАНИЕ О ЗАДЕЛЕ							
УКАЗАНИЕ О ВНЕДРЕНИИ		Входит в перечень стандартов к ТР ТС 021/2011					
ПРИМЕНЯЕМОСТЬ		При измерениях в сфере законодательной метрологии, а также вне ее					
РАЗОСЛАТЬ		Всем абонентам					
ПРИЛОЖЕНИЕ		На 2 листах					
ИЗМ.		СОДЕРЖАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ					
2	Листы 2-26 заменить.						
Составил				Согласовал			
Проверил				Н. контр.			
Изменение внес							

Содержание

1 Диапазон измерений и характеристики погрешностей измерений	3
2 Средства измерений, программное обеспечение, вспомогательные устройства, материалы, реактивы	4
2.1 Средства измерений	4
2.2 Вспомогательные устройства, программное обеспечение	5
2.3 Материалы, реактивы	5
3 Требования безопасности	6
4 Требования к квалификации операторов	7
5 Условия выполнения измерений	7
6 Подготовка к проведению испытания	7
6.1 Отбор проб	7
6.2 Подготовка лабораторной посуды	7
6.3 Приготовление ЕСО-буфера для экстракции	8
6.4 Предварительная подготовка тест-системы	8
6.5 Подготовка проб	9
7 Порядок выполнения измерений	10
7.1 Общие требования	10
7.2 Последовательность операций при выполнении измерений	10
8 Обработка результатов измерений	11
8.1 Расчет массовой доли	11
9 Контроль погрешности результатов измерений	13
9.1 Проведение оперативного контроля процедуры анализа	13
9.2 Контроль стабильности результатов анализа в форме периодической проверки подконтрольности процедуры выполнения анализа с применением образцов для контроля (ОК) в соответствии с МИ 2335-2003 (п. 7.5)	15
10 Оформление результатов измерений	17
11 Нормативные ссылки	17
Библиография	18
Приложение А	19
Приложение Б	20
Приложение В	21
Приложение Г	22

Настоящая методика предназначена для определения массовой доли фумонизина в зерновых и зернобобовых культурах, продуктах их переработки и кормах для животных методом конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-системы «Ридаскрин® ФАСТ Фумонизин ЭКО» (RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO) производства фирмы R-Biopharm (Германия).

Сущность метода заключается в конкурентном взаимодействии антигена (фумонизина) с антителами, приводящем к образованию комплекса антиген-антитело, последующей окраске комплекса с помощью субстрата-хромогенного буфера и измерении оптической плотности полученного раствора, которая обратно пропорциональна массовой доле фумонизина в растворе пробы. Массовая доля фумонизина в продукции рассчитывается по измеренным значениям массовой доли фумонизина в растворе пробы.

1 Диапазон измерений и характеристики погрешностей измерений

1.1 Диапазон измерения массовой доли фумонизина в зерновых и зернобобовых культурах и продуктах их переработки: от 0,222 до 6 мг/кг.

1.2 Предел обнаружения массовой доли фумонизина в зерновых и зернобобовых культурах и продуктах их переработки: 0,222 мг/кг.

1.3 При необходимости допускается определять фумонизин на уровне массовой доли, превышающей верхний предел измерения настоящей методики выполнения измерений. Для этого после этапа подготовки пробы (п. 6.5.2) производится дополнительная процедура разбавления подготовленной пробы испытываемого образца в необходимое количество раз. Порядок разбавления представлен в п. 6.5.3 настоящего документа.

1.4 Значения показателей точности, правильности, повторяемости и воспроизводимости в зависимости от диапазона измерений представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Значения показателей точности, правильности, повторяемости и воспроизводимости при определении фумонизина

Диапазон измерений мг/кг	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r , %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R , %	Показатель правильности (границы, в которых при доверительной вероятности $P = 0,95$ находится неисключенная систематическая погрешность) $\pm \Delta_c$, %	Показатель точности (границы, в которых при доверительной вероятности $P = 0,95$ находится погрешность) $\pm \Delta$, %
0,222 - 6	7	9	± 8	± 20

Для расчета значений показателей повторяемости σ_r , воспроизводимости σ_R , правильности Δ_c , точности Δ в зависимости от конкретных значений массовой доли фумонизина C_m , в любой точке диапазона измерений, предусмотренного методикой, следует использовать линейные зависимости, представленные в таблице 1.2.

Таблица 1.2 – Зависимости значений показателей повторяемости показателей повторяемости σ_r , воспроизводимости σ_R , правильности Δ_s , точности Δ от массовой доли C_m

Показатель точности	Уравнение зависимости показателей от величины массовой доли фумонизина C_m
Среднее квадратическое отклонение повторяемости σ_r , мг/кг	$0,07 C_m$
Среднее квадратическое отклонение воспроизводимости σ_R , мг/кг	$0,09 C_m - 0,01$
Границы, в которых при доверительной вероятности $P = 0,95\%$ находится неисключенная систематическая погрешность Δ_s , мг/кг	$0,08 C_m - 0,01$
Границы, в которых при доверительной вероятности $P = 0,95\%$ находится погрешность Δ , мг/кг	$0,20 C_m - 0,03$

Значения пределов повторяемости и воспроизводимости для двух результатов измерений при определении фумонизина в зависимости от диапазона измерений представлены в таблице 1.3.

Таблица 1.3 - Значения пределов повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности $P = 0,95$

Диапазон измерений, мг/кг	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений) r , %	Предел воспроизводимости (для двух результатов анализа) R , %
0,222 – 6	20	25

Сведения об оценке показателей точности, правильности и прецизионности (воспроизводимости и повторяемости) методики выполнения измерений приведены в Приложении А.

2 Средства измерений, программное обеспечение, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

2.1 Средства измерений

Для проведения работ, согласно методике, используют следующие средства измерения, допущенные к применению в Республике Беларусь и прошедшие метрологическую оценку в установленном порядке:

а) автоматический микропланшетный фотометр, обеспечивающий измерение на длине волны 450 нм с пределами погрешности измерения оптической плотности $\pm 0,02$ Б в диапазоне измерений от 0 до 0,4 Б и пределами относительной погрешности измерения оптической плотности $\pm 5\%$ в диапазоне измерений от 0,4 до 4,3 Б;

б) средство измерений для измерения температуры и влажности воздуха:

- с диапазоном измерений температуры, включающим диапазон от 15 °С до 25 °С, и пределами погрешности измерений температуры ± 1 °С;

- с диапазоном измерений относительной влажности, включающим диапазон от 15% до 95% и пределами относительной погрешности измерений относительной влажности $\pm 3\%$;

в) дозаторы с диапазоном объемов дозирования от 20 до 200 мм³ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального $\pm 2,0\%$;

г) дозаторы с диапазоном объемов дозирования от 100 до 1000 мм³ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального $\pm 1,5\%$;

д) дозаторы с диапазоном объемов дозирования от 1 до 10 см³ и относительным

отклонением фактического объема дозы от номинального $\pm 2,0 \%$;

е) дозаторы многоканальные с диапазоном объемов дозирования от 50 до 350 мм³ и относительным отклонением фактического объема дозы от номинального $\pm 2,0 \%$;

ж) весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1 специального класса точности с наибольшим пределом взвешивания до 220 г, ценой деления не более 0,0001 г;

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

и) секундомер с диапазоном измерений от 1 мин до 60 мин и пределами погрешности измерений времени ± 2 с.

к) дозатор бутылочный Dispensette S Organic, фирма "BRAND GMBH + CO KG" с диапазоном объемов дозирования от 5 до 25 мл и пределом допускаемого отклонения среднего арифметического фактического объема дозы от номинального $\pm 5,0 \%$

Допускается применение других средств измерений с метрологическими и техническими характеристиками, не хуже указанных выше.

2.2 Вспомогательные устройства, программное обеспечение

Программное обеспечение «Ridasoft WIN» версии не ниже 1.2.1, разработанное R-Biopharm AG, Германия (далее ПО).

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая относительное центробежное ускорение не менее 3500 g (пробирки вместимостью от 50 до 125 см³).

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

Лабораторный вортекс, обеспечивающий частоту вращения не менее 1800 об/мин.

Лабораторный шейкер, обеспечивающий частоту вращения не менее 420 об/мин.

Гомогенизатор лабораторный или бытовой блендер.

Использование следующего оборудования не является обязательным, но рекомендуется для увеличения производительности и повышения точности измерений:

- инкубатор для микротитровальных планшетов, обеспечивающий поддержание температуры от 20 °С до 25 °С с точностью не более ± 1 °С;

- устройство отмывки иммунологических планшетов автоматическое с диапазоном объемов моющего раствора, заливаемого в каждую микроювету от 100 мм³ до 350 мм³.

Мельница лабораторная, обеспечивающая измельчение с размером частиц не более 0,5 мм.

Сито лабораторное с размером ячеек 0,5 мм.

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

2.3 Материалы, реактивы

Пленка «парафильм» или скотч.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Штатив для пробирок.

Пробирки полипропиленовые для центрифугирования вместимостью 50 см³ и 15 см³.

Пробирки микроцентрифужные с крышкой (типа Эппендорф) из полипропилена вместимостью 2 см³.

Пипетки 1-2-25 по ГОСТ 29169.

Колбы конические вместимостью 100 см³; 500 см³ по ГОСТ 25336.

Колбы мерные вместимостью 100 см³ и 1000 см³ типа 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

Воронки типа В-56-80 ХС, В-75-110 ХС по ГОСТ 25336.

Стаканы Н-1-100 или Н-1-150, Н-1-500, Н-1-1000 по ГОСТ 25336.

Пипетки 1-2-5, 1-2-25 по ГОСТ 29169.

Палочки стеклянные оплавленные.

Цилиндры мерные вместимостью 25 см³; 50 см³; 250 см³; 500 см³ типа 3-25-2, 3-50-2, 3-250-2, 3-500-2 по ГОСТ 1770.

Растворы фумонизина для проведения контроля правильности, соответствующие требованиям 9. Допускается использование сухого фумонизина для приготовления растворов для проведения контроля правильности при обеспечении их соответствии требованиям 9.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или деионизованная.

Тест-системы RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO производства R-Biopharm AG, Германия – набор реактивов и микротитровальный планшет, необходимые для выполнения измерений массовой доли фумонизина методом иммуноферментного анализа в составе, указанном в приложении В.

Допускается использование других материалов и реактивов с характеристиками и по качеству не хуже указанных (кроме тест-системы).

Примечание:

1. Тест-система «Ридаскрин ФАСТ Фумонизин» производства R-Biopharm (Германия) представляет собой набор реагентов, градуировочных растворов, необходимых для выполнения измерений массовой доли фумонизина методом конкурентного иммуноферментного анализа.

2. Указанные значения величин массовой доли фумонизина градуировочных растворов, входящих в комплект тест-системы уже учитывают коэффициент разбавления, равный 50, который получается при разбавлении пробы в результате процедуры пробоподготовки по 6.5.2. Это позволяет находить значение массовой доли фумонизина в пробе сразу по градуировочной зависимости, т. е. не умножая полученный по градуировочному графику результат измерений на коэффициент разбавления. Таким образом, значение массовой доли фумонизина в анализируемой пробе оказывается равным измеренному значению массовой доли фумонизина в растворе пробы, полученной по градуировочной зависимости.

3 Требования безопасности

3.1 При выполнении измерений массовой доли фумонизина соблюдают следующие требования:

- электробезопасности по ГОСТ 12.2.003;
- пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004;
- техники безопасности при работе в химической лаборатории в соответствии с инструкциями, утвержденными в установленном порядке;
- техники безопасности, изложенные в эксплуатации средств измерений и оборудования, применяемых при проведении измерений.

3.2 Стоп-реагент содержит серную кислоту, при работе с ним необходимо использовать средства индивидуальной защиты (очки и перчатки). При попадании стоп-реагента на кожу или слизистые оболочки следует немедленно промыть их большим количеством воды.

3.3 Персонал, выполняющий измерения в соответствии с данной МВИ, должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования инструкции по технике безопасности при работе с фумонизина, утвержденной в установленном порядке.

Все работы с растворами фумонизина должны проводиться строго в вытяжном шкафу. При работе следует использовать средства индивидуальной защиты (фартуки, перчатки, очки). Утилизация остатков растворов фумонизина и деkontаминация содержащей их посуды проводится согласно инструкции по технике безопасности при работе с фумонизином, утвержденной в установленном порядке.

3.4 Помещения и условия выполнения работ должны соответствовать требованиям, предъявляемым к выполнению иммуноферментного анализа.

4 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают специалистов, имеющих высшее или среднее специальное образование, владеющих техникой постановки иммуноферментного анализа и освоивших данную методику выполнения измерений.

5 Условия выполнения измерений

5.1 При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 20 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С.

5.2 Хранение тест-систем осуществляется в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С в оригинальных флаконах и упаковке. Замораживание тест-систем с целью увеличения их срока хранения не допускается.

Хранение неиспользованных стрипов (лунок) осуществляется в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С в плотно закрытом оригинальном пакете.

Необходимо исключить прямое попадание света на раствор субстрата и хромоген-субстратный раствор.

5.3 Неиспользованные стрипы (лунки) следует хранить в холодильнике при температуре от 2 до 8 °С в плотно закрытом оригинальном фольгированном пакете вместе с имеющимся там осушителем.

5.4 Замена отдельных реагентов на реагенты из тест-наборов других партий не допускается.

5.5 Раствор субстрата/хромогена светочувствителен, поэтому следует избегать прямого попадания на него солнечных лучей.

5.6 Не следует использовать реагенты, имеющие следующие признаки распада:

- голубая окраска красновато окрашенного раствора субстрата-хромогена до внесения в лунки;
- оптическая плотность меньше 0,8 Б ($E_{450nm} < 0,8$ Б) для градуировочного раствора с массовой долей фумонизина 0 мг/л;
- помутнение экстракционного буфера.

6 Подготовка к проведению испытания

6.1 Отбор проб

Отбор образцов для анализа проводят по СТБ 1036, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 27668, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13979.0, ГОСТ ISO 6497, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 26312.1 или иным ТНПА по отбору проб соответствующей продукции. Отобранные образцы могут храниться в защищенном от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 сут или в замороженном виде при температуре не более минус 18 °С не более 14 сут. Перед проведением подготовки проб по 6.5 замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от 2 °С до 8 °С. Упаковка образцов должна исключать попадание влаги при хранении.

6.2 Подготовка лабораторной посуды

Сильнозагрязненную лабораторную посуду предварительно обрабатывают хромовой смесью. Лабораторную посуду после мойки в растворе специализированного моющего средства промывают водопроводной, ополаскивают дистиллированной водой два раза и высушивают.

Запрещается:

- многократное использование одноразовой лабораторной посуды;
- использование бытовых моющих средств для мойки лабораторной посуды.

6.3 Приготовление ЕСО-буфера для экстракции

В коническую колбу вместимостью 500 см³ или 1000 см³ в зависимости от объема приготавливаемого раствора мерным цилиндром наливают аликвоту 10х концентрата ЕСО-буфера и добавляют дистиллированную воду объемом в 9 раз большим по сравнению с объемом добавленного концентрата.

Объем аликвоты V , см³, 10х концентрата ЕСО-буфера, используемого для приготовления, рассчитывается, исходя из количества подготавливаемых проб N_{SMP} по формуле

$$V = 2,5 \cdot N_{SMP} + 0,1 \cdot V_1 \quad (1)$$

где V_1 - объем ЕСО-буфера, приготавливаемого в запас, см³ (не менее 1 см³).

Приготовленный ЕСО-буфер хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более 7 сут. При помутнении ЕСО-буфера, возникающем, как правило, вследствие контаминации, дальнейшее его использование не допускается.

6.4 Предварительная подготовка тест-системы

6.4.1 Предварительная подготовка тест-системы

Тест-систему извлекают из холодильника, не открывая упаковку микротитровального планшета, выдерживают при температуре от 20 °С до 25 °С от 0,5 до 1 ч, доводят температуру остальных реагентов от 20 °С до 25 °С.

Растворы из тест-системы следует готовить непосредственно перед проведением ИФА. Перед использованием реагенты необходимо аккуратно перемешать круговыми движениями флаконов.

6.4.2 Подготовка микротитровального планшета

Количество лунок микротитровального планшета, необходимых для проведения измерений N_w , рассчитывается по формуле

$$N_w = 6 + N_{MP}, \quad (2)$$

где N_{MP} - количество подготовленных проб;

6 – количество лунок для градуировочных растворов.

Микротитровальный планшет со стрипами, предварительно подготовленными в соответствии с 6.4.1, вынимают из упаковки. В микротитровальный планшет помещают необходимое количество стрипов, рассчитанное исходя из требуемого для проведения измерений количества лунок N_w . Оставшиеся стрипы сразу же помещают в упаковку, закрывают и хранят в соответствии с разделом 5.3.

Размечают положения лунок, предназначенные для градуировочных растворов и растворов проб, согласно рисунку 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C-1	П-3	П-11									
B	C-2	П-4	П-12									
C	C-3	П-5	П-13									
D	C-4	П-6	П-14									
E	C-5	П-7	П-15									
F	C-6	П-8	П-16									
G	П-1	П-9	П-17									
H	П-2	П-10	П-18									

Рисунок 1 – Схема расположения лунок для градуировочных растворов и растворов проб где
С - 1, С - 2, ... С - 6 - градуировочные растворы,
П - 1, П - 2, ... П - 18 - подготовленные пробы,
1,2,3 12 - номера стрипов в планшете,
А, В, ... Г - обозначения лунок в стрипах.

Не следует одновременно использовать более трех стрипов. Если необходимо провести измерение с использованием более 3 стрипов, ИФА выполняется несколько раз.

6.4.3 Приготовление моющего буфера

В зависимости от планируемого срока использования моющий буфер готовят двумя приведенными ниже способами.

Способ 1. Содержимое пакета для приготовления моющего буфера количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Добавляют 500 – 600 см³ дистиллированной воды, содержимое колбы перемешивают до полного растворения осадка, после чего доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор хранят при температуре от 2 °С до 8 °С не более 6 недель в стеклянной или полиэтиленовой посуде.

Способ 2. Содержимое пакета для приготовления моющего буфера количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Добавляют 50 – 60 см³ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения осадка и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный концентрированный раствор (10-кратное концентрирование) хранят при температуре от 20°С до 25 °С не более 12 недель. Для приготовления готового раствора моющего буфера 10 см³ концентрата переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки дистиллированной водой.

6.5 Подготовка проб

6.5.1 Предварительная подготовка проб зерна, зернобобовых и продуктов их переработки

Для подготовки проб используют образец, отобранный в соответствии с 6.1.

Исследуемый образец массой от 100 до 150 г измельчают на гомогенизаторе или блендере или на лабораторной мельнице в течение 3-5 мин и тщательно перемешивают. Если используемая лабораторная мельница не снабжена ситами, то затем образец просеивают через сито с отверстиями диаметром 0,5 мм, остаток образца на сите снова измельчают на мельнице так, чтобы он весь прошел через сито с отверстиями диаметром 0,5 мм, добавляют к просеянной части и тщательно перемешивают.

6.5.2 Проведение экстракции и получение растворов подготовленных проб

От образцов, предварительно подготовленных в соответствии с 6.5.1 отбирают навески массой 5,0 г, взвешенные с точностью до 0,1 г. От каждого образца отбирают по одной навеске, за исключением образцов, указанных в 9, для которых отбирают две навески (проводят два параллельных определения).

Навески помещают в пробирки для центрифугирования вместимостью 50 см³ и в каждую пробирку добавляют отмеренные бутылочным дозатором или цилиндром 25,0 см³ ЕСО-буфера для экстракции, приготовленного по 6.3. Перемешивают содержимое пробирок на шейкере при частоте вращения 420 об/мин или вручную в течение 5 мин. Центрифугируют пробирки при температуре от 20 °С до 25 °С, относительном центробежном ускорении 3500 g, в течение 5 мин.

При отсутствии центрифуги, после встряхивания выдерживают пробирки не менее 20 мин для осаждения частиц пробы, после чего фильтруют верхний слой через складчатый бумажный фильтр в пробирки для центрифугирования вместимостью 15 или 50 см³.

Отбирают дозатором аликвоты надосадочной жидкости или фильтрата (при

проведении фильтрования) объемом 100 мм³ и помещают их в микроцентрифужные пробирки вместимостью 2 см³. В каждую пробирку добавляют отмеренные дозатором 900 мм³ буфера для разведения. Содержимое пробирок тщательно перемешивают на вортексе.

Полученные растворы подготовленных проб используются для проведения ИФА. Допускается хранение растворов подготовленных проб при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 6 ч.

6.5.3 Разбавление проб

В случае, когда необходимо выполнить измерение пробы с массовой долей фумонизина, превышающей верхнюю границу диапазона измерений настоящей методики, выполняется разбавление пробы, подготовленной по 6.5.2 буфером для разведения.

Для этого аликвота надосадочной жидкости или фильтрата доводится до требуемого объема в зависимости от степени разбавления, которая определяется коэффициентом разбавления F , рассчитываемым по формуле:

$$F = 0,1 \cdot \frac{V_p}{V_a} \quad (3)$$

где V_a – объем аликвоты исходного раствора пробы, см³ (не менее 0,05 см³);

V_p – объем разбавленного раствора пробы, см³.

Полученный раствор в течение часа используют для выполнения ИФА.

Степень разбавления зависит от ожидаемого содержания фумонизина в пробе продукции, поступившей для анализа. Предельное значение коэффициента разбавления F – 65.

При необходимости разбавление может выполняться в несколько этапов.

7 Порядок выполнения измерений

7.1 Общие требования

Для проведения измерений используют растворы проб, подготовленные в соответствии с 6.5.2. Компоненты тест-системы подготавливают в соответствии с 6.4.

7.2 Последовательность операций при выполнении измерений

7.2.1 Внесение градуировочных растворов и растворов проб

В лунки микротитровального планшета, размеченного согласно 6.4.2, вносят отобранные дозатором аликвоты объемом 50 мм³ каждого градуировочного раствора. Каждую аликвоту вносят в отдельную лунку, внесение производится в порядке возрастания значений массовой доли фумонизина в градуировочных растворах: 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 3,0; 9,0 мг/дм³.

Затем в соответствующие лунки микротитровального планшета вносят отобранные дозатором аликвоты объемом 50 мм³ растворов подготовленных проб.

7.2.2 Внесение конъюгата

В каждую лунку микротитровального планшета с градуировочными растворами или растворами проб вносят дозатором по 50 мм³ раствора конъюгата. Аккуратными круговыми движениями планшета по поверхности стола перемешивают содержимое. Встряхивания, постукивания планшетом по столу не допустимы.

7.2.3 Внесение антител

В каждую лунку микротитровального планшета вносят дозатором по 50 мм³ раствора антител. Аккуратными круговыми движениями планшета по поверхности стола перемешивают содержимое. Встряхивания, постукивания планшетом по столу не допустимы.

7.2.4 Инкубация

Помещают микротитровальный планшет в инкубатор при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С и инкубируют в течение 5 мин. При отсутствии инкубатора планшет инкубируют в течение 5 мин в темноте при указанной выше температуре.

7.2.5 Промывка микротитровального планшета

По окончании инкубации жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания микротитровального планшета. Промывают планшет три раза, добавляя при этом каждый раз многоканальным дозатором в лунки планшета по 250 мм³ моющего буфера, приготовленного по 6.4.3, и затем выливая его резким переворачиванием планшета. После последнего промывания планшет переворачивают и удаляют остатки жидкости путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому листом сухой фильтровальной бумаги.

Примечание: В процессе работы следует избегать высыхания лунок в перерывах между отдельными этапами работы и увеличения перерывов. Точность результатов измерений зависит от равномерного промывания лунок, поэтому следует строго соблюдать процесс промывки. Рекомендуется проводить процедуру промывки планшета с помощью устройства для промывки планшетов, задавая следующие параметры программы: количество циклов промывки - от 3 до 4, объем используемого промывочного раствора – 250 мм³.

7.2.6 Внесение субстрата/хромогена

В лунки микротитровального планшета дозатором вносят по 100 мм³ раствора субстрата/хромогена. Аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают его содержимое.

7.2.7 Инкубация

Помещают микротитровальный планшет в инкубатор при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С и инкубируют в течение 3 мин. Отсчет времени инкубации начинают немедленно после окончания внесения раствора субстрата/хромогена. При отсутствии инкубатора планшет инкубируют в течение 3 мин в темноте при указанной выше температуре.

7.2.8 Завершение реакции окрашивания

Сразу же после окончания инкубации в каждую лунку микротитровального планшета дозатором вносят по 100 мм³ раствора стоп-реагента и аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают его содержимое.

7.2.9 Измерение оптической плотности

В течение 10 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке микротитровального планшета на автоматическом микропланшетном фотометре при длине волны 450 нм. Измерения проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

8 Обработка результатов измерений

8.1 Расчет массовой доли

Обработка результатов измерений оптической плотности производится с помощью ПО. При обработке используется следующий метод: «Ridawin.NET\FOOD\Mycotoxins FAST\R5603 FAST Fumonisin ECO.met».

Программное обеспечение автоматически осуществляет:

- построение градуировочной зависимости логарифм значения массовой доли фумонизина - относительной оптической плотности $\logit(B_i/B_0)$, где B_i - оптическая плотность i -го градуировочного раствора ($i = 2...6$), B_0 - оптическая плотность 1-го градуировочного раствора с массовой долей фумонизина 0 мг/дм³.
- расчет фактического значения массовой доли фумонизина в пробах на основании рассчитанного значения относительной оптической плотности.

Для получения результата измерений задают следующие настройки:

- фактор разбавления (Samples → Dilution factor) – 1;
- количество параллельных определений образца (Samples → Replicates) – 1;
- количество параллельных определений стандарта (Standards → Replicates) – 1;
- метод расчета – logit-log.

В случае дополнительного разбавления пробы по 6.5.3 ПО автоматически осуществляет расчет массовой доли фумонизина посредством задания пользователем соответствующего коэффициента разбавления.

8.2 При необходимости по величинам связывания (B_i/B_0), вычисленным для градуировочных растворов фумонизина, и соответствующим значениям массовой доли фумонизина в этих растворах строят градуировочную кривую, пример которой представлен на рисунке Б.1 Приложения Б. Массовую долю фумонизина в растворе исследуемой пробы определяют по калибровочной кривой в зависимости от величины процента связывания, вычисленной для этого раствора. Функция градуировочной зависимости, формулы для нахождения ее параметров и порядок расчетов массовой доли фумонизина в растворе исследуемой пробы на основании градуировочной зависимости представлены в Приложении Б.

8.3 В соответствии с Примечанием 2 к п. 2 значение массовой доли фумонизина в растворе анализируемой пробы не следует умножать на коэффициент разбавления пробы и за результат единичного измерения принимают значение массовой доли фумонизина в растворе пробы, полученное по градуировочной кривой.

8.4 За окончательный результат измерения x , мг/кг, принимают результат единичного измерения массовой доли фумонизина в пробе, полученный по 8.1, при условии, что при проведении измерений выполняется процедура контроля повторяемости в соответствии с 9 с периодичностью, установленной системой менеджмента качества лаборатории, но не реже, чем один образец в каждой серии проб.

Окончательный результат измерений округляют до третьего десятичного знака.

8.5 В случае дополнительного разбавления пробы по 6.5.3 окончательный результат измерения рассчитывается по формуле:

$$x' = F \cdot x \quad (4)$$

где x – результат измерений, полученный согласно по п. 8.1;

F – коэффициент разбавления пробы, рассчитанный по формуле (3).

8.6 Результат измерений представляется в следующем виде:

$$(x \pm 0,01 \cdot \Delta \cdot x) \text{ мг/кг}$$

где x – результат измерений, полученный в соответствии с 8.1 или 8.3;

Δ – значение показателя точности в соответствии с таблицей 1.1.

8.7 Если величина массовой доли фумонизина в пробе оказывается меньше нижнего предела измерений методики выполнения измерений (0,222 мг/кг), то вычисление по 8.1 не производится и дается односторонняя оценка содержания фумонизина в пробе в следующем виде:

менее 0,222 мг/кг

9 Внутренний контроль качества результатов анализа (контроль точности)

Для контроля правильности выполнения измерений осуществляют процедуру внутреннего контроля качества результатов, полученных в соответствии с данной методикой измерения. Внутренний контроль выполняют путем проведения оперативного контроля процедуры анализа и контроля стабильности результатов.

Оперативный контроль процедуры анализа проводят с целью проверки готовности лаборатории к проведению анализа рабочих проб, полученных совместно с результатами контрольных измерений. Оперативный контроль проводят при:

- внедрении методики, при выявлении несоответствий;
- при появлении факторов, которые могут повлиять на стабильность процесса измерений (смена партии реактивов, использование средств измерений после ремонта и т.п.);

Контроль стабильности результатов анализа проводят с целью подтверждения лабораторией компетентности в обеспечении качества выдаваемых результатов анализа и оценки деятельности лаборатории в целом.

Организационные процедуры и периодичность внутреннего контроля качества результатов, полученных в соответствии с данной методикой анализов, устанавливаются в соответствии с требованиями системы качества, принятой в лаборатории.

Ниже приводятся рекомендуемые процедуры проведения внутреннего внутривенного контроля.

9.1 Проведение оперативного контроля процедуры анализа

9.1.1 Контроль повторяемости при реализации периодического контроля процедуры анализа

9.1.1.1 Контроль повторяемости осуществляют с периодичностью, установленной системой менеджмента качества лаборатории, но не реже, чем один образец в каждой серии проб. При проведении контроля повторяемости получают результаты измерений двух проб одного образца x_1 , x_2 в соответствии с методикой выполнения измерений по 8. Результаты измерений x_1 , x_2 должны быть получены в условиях повторяемости, т.е. в одной серии измерений с использованием одной и той же градуировки.

9.1.1.2 Процедура контроля предусматривает сравнение абсолютного расхождения r_k между двумя результатами измерений x_1 и x_2 с абсолютным значением предела повторяемости:

$$r_k = |x_1 - x_2| \leq r \cdot 0,01 \cdot \bar{x} \quad (5)$$

где $\bar{x}$ – среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений x_1 , x_2 , рассчитанное по формуле (6);

r – значение предела повторяемости, представленное в таблице 1.3

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2}{2} \quad (6)$$

9.1.1.3 При выполнении условия (5) результат контрольной процедуры признают удовлетворительным и за окончательный результат измерений принимают значение $\bar{x}$, рассчитанное по формуле (6).

9.1.1.4 Если условие (5) не выполняется, повторяют сначала испытание по п. 7, а потом процедуру контроля повторяемости по п. 9.1.1.2. При повторном превышении предела повторяемости выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

9.1.2 Проведение оперативного контроля процедуры анализа с использованием контрольной процедуры для контроля точности (КПКТ) с использованием образцов для контроля (ОК) в соответствии с РМГ 76 (п. 5.5)

9.1.2.1 Оперативный контроль производится путем анализа ОК с заранее известным значением массовой доли фумонизина (рабочая проба с добавкой).

ОК представляют собой навеску пробы, массовая доля фумонизина в которой менее предела измерения данной МВИ, в которую внесена добавка раствора фумонизина. Добавка вносится непосредственно в пробирки с навесками проб. Значение массовой доли фумонизина X_{am} , мг/кг, в пробе с добавкой рассчитывается по формуле

$$X_{am} = \frac{C_{ST} \cdot V_{ST}}{m}, \quad (7)$$

где C_{ST} – массовая концентрация раствора фумонизина, мкг/см³;

V_{ST} – объем раствора фумонизина, см³;

m – масса навески пробы, г.

Величина массовой доли фумонизина в пробе с добавкой должна находиться в диапазоне измерений.

Для внесения добавки используется раствор, приготовленный из фумонизина в соответствии с рекомендациями производителя. Допускается использовать готовые растворы для добавки (spike-растворы) фумонизина, при условии, что относительная погрешность значения массовой доли фумонизина в них не превышает 3 %.

В качестве КО могут использоваться пробы с аттестованными значениями содержания фумонизина, погрешность аттестации которых не должна превышать одной трети от характеристик погрешностей, представленных в таблицах 1.1 или 1.2. Такими образцами могут быть стандартные образцы зерна с известными значениями величины массовой доли фумонизина, приготовленные и аттестованные фирмой R-Biopharm (Германия).

9.1.2.2 При реализации контрольной процедуры получают результат контрольного измерения содержания фумонизина в контрольном образце $\bar{X}$ и сравнивают его с известным значением содержания фумонизина C в этом образце.

Результат контрольной процедуры K_K рассчитывают по формуле

$$K_K = \bar{X} - C \quad (8)$$

Норматив контроля K определяют как

$$K = \Delta$$

Где $\pm \Delta$ – характеристика погрешности результатов анализа, соответствующая значению содержания фумонизина в образце для контроля и представленная в таблицах 1.1 и 1.2.

9.1.2.3 Проводят сопоставление результатов контрольной процедуры с нормативом контроля. Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию

$$|K_K| \leq K, \quad (9)$$

процедуру считают удовлетворительной.

9.1.2.4 При невыполнении условия (9) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (9) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

9.1.3 Проведение оперативного контроля процедуры анализа с использованием КПКП с применением контрольной методики анализа в соответствии с РМГ 76 (п. 5.10)

9.1.3.1 КПКП с применением контрольной методики анализа используют при наличии в лаборатории другой хорошо апробированной методики, при этом подлежит учету экономическая целесообразность применения данного способа.

Для представленной в настоящем документе методики выполнения измерений в качестве сравнительной методики может быть использована методика выполнения измерений массовой доли микотоксинов с помощью метода жидкостной хроматографии. Метод определения массовой доли микотоксинов в пищевой продукции с применением жидкостной хроматографии рекомендуется использовать в качестве сравнительной методики в следующих случаях:

- внедрение настоящей методики выполнения измерений в практику лаборатории;
- размещение спорных вопросов;
- смена оператора и т.п.

9.1.3.2 При использовании КПКП с применением контрольной методики следует выполнять следующие условия:

1) диапазоны измерения предоставленной в данном документе методики выполнения измерений и контрольной методики соответствуют друг другу и диапазону массовой доли определяемого микотоксина в рабочих пробах, анализируемых в лаборатории;

2) для контрольной методики установлены значения характеристик погрешности результатов анализа при ее реализации в лаборатории, их значения характеристик должны быть меньше значений, представленных в таблицах 1.1 и 1.2 настоящего документа;

9.1.3.3 При реализации контрольной процедуры получают в одинаковых условиях результаты контрольных измерений $\bar{X}$ и $\bar{X}_K$ одной и той же пробы по контролируемой (настоящей) и контрольной методикам соответственно.

9.1.3.4 Результат контрольной процедуры K_K рассчитывают по формуле

$$K_K = \bar{X} - \bar{X}_K \quad (10)$$

9.1.3.5 Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta_{л,\bar{X}}^2 + \Delta_{л,\bar{X}_K}^2} \quad (11)$$

где $\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ – характеристика погрешности результатов анализа при реализации контролируемой (настоящей) методики выполнения измерений в лаборатории, соответствующая массовой доле микотоксина в пробе;

$\pm\Delta_{л,\bar{X}_K}$ – характеристика погрешности результатов анализа при реализации контрольной методики выполнения измерений в лаборатории, соответствующая массовой доле микотоксина в пробе.

9.1.3.6 Проводят сопоставление результата контрольной процедуры с нормативом контроля. Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию (9), процедуру признают удовлетворительной.

9.1.3.7 При невыполнении условия (9) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (9) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

9.2 Контроль стабильности результатов анализа в форме периодической проверки подконтрольности процедуры выполнения анализа с применением образцов для контроля (ОК) в соответствии с РМГ 76 (п. 7.5)

9.2.1 Выбирают образец для контроля в соответствии с п. 9.1.2.1.

9.2.2 Получают случайным образом в течение контролируемого периода L результатов контрольных измерений ОК ($L \geq 5$). Каждый контрольный результат измерений $\bar{X}_l$ может быть получен как среднее арифметическое значение из результатов параллельных определений. При этом разница между такими результатами не должна превышать значение предела повторяемости r , представленное в таблице 1.3.

9.2.3 Рассчитывают среднее арифметическое значение результатов контрольных измерений $\bar{\bar{X}}$, их среднеквадратичное отклонение S_x и математическое ожидание (оценку) систематической погрешности лаборатории θ'_l (отклонение среднего значения от значения C образца для контроля) по формулам:

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\sum_{l=1}^L \bar{X}_l}{L} \quad (12)$$

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^L (\bar{X}_l - \bar{\bar{X}})^2}{L-1}} \quad (13)$$

$$\theta'_l = \bar{\bar{X}} - C \quad (14)$$

где $\bar{X}_l$ – l -ый результат контрольного измерения содержания определяемого компонента в ОК, $l = 1, \dots, L$.

9.2.4 Рассчитывают норматив контроля внутрилабораторной прецизионности $K_{ВП}$ для доверительной вероятности $P=0,95$ по формуле

$$K_{ВП} = \mu(f) \sigma_{R_l} \quad (15)$$

где $f = L - 1$,

$\mu(f)$ – коэффициент, учитывающий ограниченность выборки (приведен в таблице 9.1);

σ_R – СКО воспроизводимости, выбираемое из таблиц 1.1 или 1.2 в зависимости от массовой доли фумонизина в ОК.

Таблица 9.1 – Коэффициент, учитывающий ограниченность выборки для доверительной вероятности $P=0,95$

f	$\mu(f)$	f	$\mu(f)$
4	1,54	10	1,35
5	1,49	11	1,34
6	1,45	12	1,32
7	1,42	13	1,31
8	1,39	14	1,30
9	1,37	15	1,29

9.2.5 Рассчитывают норматив контроля правильности для доверительной вероятности $P=0,95$ по формуле

$$K_{П} = \sqrt{\frac{(t_{\text{табл}}(f) \cdot S_x)^2}{L} + \Delta^2 c}, \quad (16)$$

Где $t_{\text{табл}}(f)$ – квантиль t – распределение Стьюдента;

$\pm \Delta_c$ – характеристика систематической погрешности лаборатории, выбираемая из таблицы 1.1 в зависимости от содержания фумонизина ОК.

9.2.6. Стабильность процесса анализа признают удовлетворительной, если выполняются следующие условия:

$$S_x \leq K_{ВП} \text{ и } |\theta'_l| \leq K_{П}, \quad (17)$$

В противном случае стабильность процесса анализа подвергают сомнению, выясняют и устраняют причины неудовлетворительного воспроизведения процедуры выполнения анализа.

9.2.7 Форма регистрации результатов контроля при периодической проверке подконтрольности процедуры выполнения анализа с использованием ОК приведена в таблице 9.2.

Таблица 9.2 – Форма регистрации результатов контроля при периодической проверке подконтрольности процедуры выполнения анализа с применением ОК

НД на методик у анализа	Шиф р ОК	Определяемы й компонент	Аттестованно е значение ОК, С	Результаты контрольных измерений X_i	Среднее значени е $\bar{X}$	СКО S_x	Норматив контроля внутри-лабораторной прецизионност и $K_{вп}$	Математическое ожидание (оценка) систематической погрешност и лаборатории θ'_d	Норматив контроля правильности $K_{п}$	Выводы по результатам контроля

10 Оформление результатов измерений

Результаты измерения оптических плотностей градуировочных растворов, проб, измеренное значение массовой доли фумонизина в пробе, использованный коэффициент разбавления, а также дата проведения анализа и идентификационный номер пробы представляются в протоколе анализа, выдаваемом программным обеспечением «RIDA® Soft».

11 Нормативные ссылки

В настоящей методике использованы ссылки на следующие документы:

ГОСТ 12.1.004–91	Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования
ГОСТ 12.2.003–91	Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности
ГОСТ 1770–74	Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
ГОСТ ISO 6497–2014	Корма. Отбор проб
ГОСТ 6709–72	Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 12026–76	Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
ГОСТ 13496.0–2016	Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб
ГОСТ 13586.3–2015	Зерно. Правила приемки и методы отбора проб
ГОСТ 13979.0–86	Жмыхи, шроты и горчичный порошок. Правила приемки и методы отбора проб
ГОСТ 25336–82	Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 26312.1–84	Крупа. Правила приемки и методы отбора проб
ГОСТ 27668–88	Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб

Библиография

[1]	РМГ 61-2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки
[2]	РМГ 76-2014 Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа

Приложение А

Сведения об оценке показателей точности, правильности, прецизионности методики выполнения измерений фумонизина

Оценка показателей точности, правильности, прецизионности методики выполнения измерений фумонизина выполнялась согласно требованиям МИ 2336-2002*. Результаты оценки приведены в таблице А.1.

Таблица А.1 – Сведения об оценке показателей точности, правильности, прецизионности методики выполнения измерений фумонизина

№ Образца, m	Количество лабораторий, L	Количество результатов единичного анализа, N	Уровень	Принятое опорное значение, С _т , мкг/кг	Среднее арифметическое значение результатов анализа, $\bar{X}_m$, мкг/кг	Оценка среднего квадратического отклонения повторяемости, $\sigma_{r,m}$, %	Оценка среднего квадратического отклонения воспроизводимости, $\sigma_{R,m}$, %	Метод оценки показателя правильности	Оценка показателя правильности, $U(\theta)_m$, %	Оценка показателя точности, U, %
1	4	3	1	0,238	0,254	3,71	5,85	С применением набора образцов для оценивания в виде СО в одной лаборатории в условиях внутрिलाбораторной прецизионности	6,17	13
			2	5,153	5,103	2,79	7,07		7,25	14
2	4	3	1	0,249	0,249	3,07	4,20		4,65	8
			2	5,256	5,256	1,74	3,09		3,78	6
3	4	3	1	0,248	0,248	2,11	5,14		5,56	10
			2	5,376	5,376	3,12	7,17		7,29	14
4	4	3	1	0,238	0,257	3,11	5,97		6,21	12
			2	5,153	5,227	1,44	1,73		2,87	3
5	4	3	1	0,238	0,259	2,80	3,71		4,21	7
			2	5,153	4,994	3,17	4,27		4,70	8
6	4	3	1	0,238	0,251	5,62	5,77		5,74	11
			2	5,153	5,102	2,29	3,58		4,17	7
7	4	3	1	0,238	0,248	3,44	5,40		5,69	11
			2	5,153	5,320	1,23	2,55		3,38	5
8	4	3	1	0,238	0,240	1,41	1,87		3,11	4
			2	5,153	4,876	4,75	6,67		6,74	13

*в настоящее время действует РМГ 61-2010^[1]

Приложение Б (обязательное)

Порядок расчетов параметров функции градуировочной зависимости и результата измерений

Б.1 Градуировочная зависимость, необходимая для расчета результата измерения, описывается линейной функцией вида:

$$y = a + bx \quad (\text{Б.1})$$

где коэффициенты a и b вычисляются по формулам:

$$b = \frac{4 \sum_{i=2}^5 x_i y_i - \sum_{i=2}^5 x_i \sum_{i=2}^5 y_i}{4 \sum_{i=2}^5 x_i^2 - (\sum_{i=2}^5 x_i)^2} \quad (\text{Б.2})$$

$$a = \frac{4 \sum_{i=2}^5 y_i - b \sum_{i=2}^5 x_i}{4} \quad (\text{Б.3})$$

где $x_i = \log C_i$,

(Б.4)

где C_i – массовая доля фумонизина в i -ом градуировочном растворе, мг/кг;

$$y_i = \log it \left(\frac{B_i}{B_0} \right) = \ln \left(\frac{B_i/B_0}{1 - B_i/B_0} \right) \quad (\text{Б.5})$$

где B_i – значение оптической плотности, измеренное для i -ого градуировочного раствора, Б;

B_0 – значение оптической плотности, измеренное для градуировочного раствора 1 (содержащего 0 мг/кг фумонизина), Б.

Пример построения градуировочной кривой представлен на рисунке Б.1.

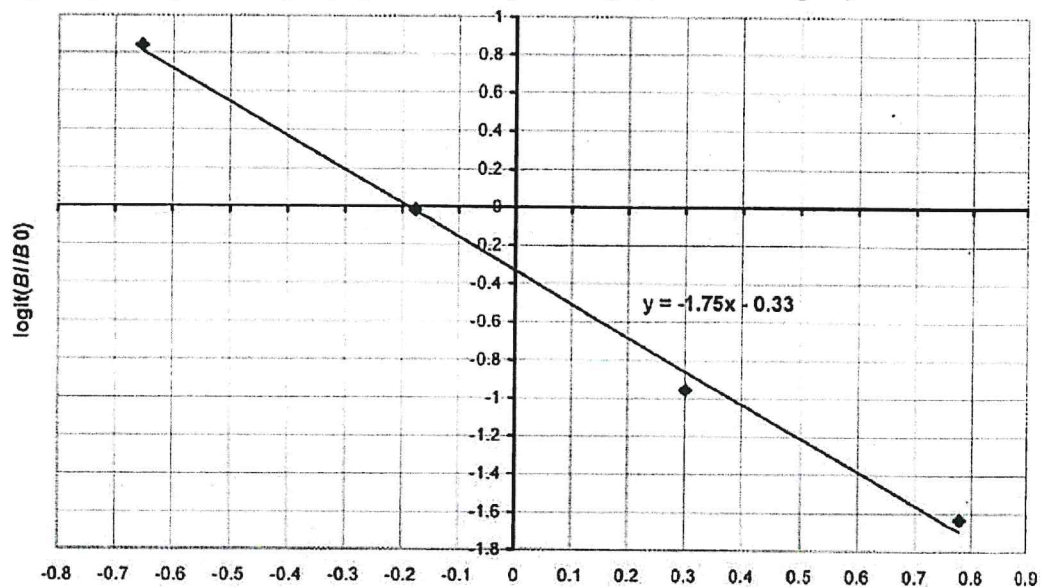


Рисунок Б.1 – Пример построения градуировочной кривой

Приложение В
(обязательное)
Составы тест-систем

Таблица В.1 – Состав тест-системы RIDASCREEN®FAST Fumonisin

Компонент тест-системы	Количество в комплекте, шт.
Микротитровальный планшет (6 стрипов по 8 лунок)	1 шт.
10х концентрат ЕСО-буфера	120 см ³
Буфер для разведения (готовый к применению)	60 см ³
Градуировочные растворы фумонизина с массовой долей 0,0 мг/дм ³ ; 0,25 мг/дм ³ ; 0,5 мг/дм ³ ; 1,0 мг/дм ³ ; 3,0 мг/дм ³ ; 9,0 мг/дм ³ (с учетом коэффициента разбавления 50)	6 х 1,3 см ³
Моющий буфер (смесь сухих солей)	1 шт.
Конъюгат (готовый к применению)	1 шт. х 3 см ³
Антитела (готовые к применению)	1 шт. х 3 см ³
Раствор субстрата/хромогена (готовый к применению)	1 шт. х 10 см ³
Стоп-реагент (готовый к применению)	1 шт. х 14 см ³

Приложение Г
(справочное)
Специфичность тест-системы

Таблица Г.1 – Специфичность тест-системы RIDASCREEN®FAST Fumonisin

Микотоксин	Кросс реактивность, %
Фумонизин В ₁	100
Фумонизин В ₂	62
Фумонизин В ₃	70

