

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
52996—  
2008  
(ИСО 11816-1:2006)

---

## МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение активности щелочной фосфатазы

Часть 1

Флуориметрический метод для молока и молочных  
продуктов

ISO 11816-1:2006

Milk and milk products — Determination of alkaline phosphatase activity — Part 1:  
Fluorimetric method for milk and milk-based drinks  
(MOD)

Издание официальное

БЗ 8—2008/216



Москва  
Стандартинформ  
2008

## Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

### Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН ОАО «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» (ОАО «ВНИИС») на основе аутентичного перевода международного стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 6 ноября 2008 г. № 289-ст

4 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту 11816-1:2006 «Молоко и молочные продукты. Определение активности щелочной фосфатазы. Часть 1. Флуориметрический метод для молока и молочных продуктов» (ISO 11816-1:2006 «Milk and milk products — Determination of alkaline phosphatase activity — Part 1: Fluorimetric method for milk and milk-based drinks»).

При этом дополнительные слова, фразы, абзацы, включенные в текст стандарта для учета потребностей национальной экономики Российской Федерации и особенностей российской национальной стандартизации, выделены курсивом

### 5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет*

© Стандартиформ, 2009

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

## Содержание

1 Область применения . . . . .	1
2 Нормативные ссылки . . . . .	1
3 Термины и определения . . . . .	1
4 <i>Сущность метода</i> . . . . .	2
5 Реактивы . . . . .	2
6 Аппаратура . . . . .	2
7 Отбор проб . . . . .	3
8 <i>Подготовка к испытанию</i> . . . . .	3
9 <i>Проведение испытаний</i> . . . . .	3
10 Вычисление и выражение результатов . . . . .	5
11 Прецизионность . . . . .	6
12 Протокол испытания . . . . .	7
Приложение А (справочное) Межлабораторное испытание. . . . .	7
Библиография . . . . .	8

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение активности щелочной фосфатазы

Часть 1

Флуориметрический метод для молока и молочных продуктов

Milk and milk products. Determination of alkaline phosphatase activity.  
Part 1. Fluorimetric method for milk and milk products

---

Дата введения — 2010—01—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает флуориметрический метод для определения активности щелочной фосфатазы (ALP) в пастеризованном цельном, полужирном и обезжиренном молоке. Метод применим для молока коров, овец, коз и для молочных напитков.

Метод также *пригоден* для определения высокой активности щелочной фосфатазы в сыром и термообработанном молоке с активностью более 2000 мЕ/л после заданного разбавления образца.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

## 3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **активность щелочной фосфатазы (ALP активность):** Активность щелочной фосфатазы, присутствующей в продукте, определенная методом, установленным настоящим стандартом.

Примечание — Активность щелочной фосфатазы выражена в миллиединицах активности фермента на литр, мЕ/л.

3.2 **единица активности щелочной фосфатазы:** Объем фермента щелочной фосфатазы, который катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в минуту.

---

## 4 Сущность метода

Активность щелочной фосфатазы для образца измеряется путем непрерывного флуориметрического прямого кинетического анализа. В субстрате нефлуоресцентного ароматического монофосфорного эфира, 2-[2-бензотиазолил]-6'-гидроксибензотиазол фосфат, в присутствии любой щелочной фосфатазы, образованной из этого образца, происходит гидролиз его фосфатного радикала, производя продукт с интенсивной флуоресценцией. Флуориметрическое измерение активности щелочной фосфатазы проводят при температуре 38 °С в течение трех минут, используя субстрат. Сюда включена преинкубация субстрата и образца с последующим многократным кинетическим считыванием скорости реакции.

**Примечание** — Хотя испытание длится 3 мин, первая минута является равновесным периодом для обеспечения температуры образца 38 °С. Измерения активности фактически начинаются со второй минуты и продолжаются до конца третьей минуты (т. е. 2 мин).

## 5 Реактивы

Используются только *реактивы* признанной аналитической чистоты, если нет других указаний, и дистиллированная или деминерализованная вода или вода аналогичной чистоты.

5.1 Субстрат Флуорофоса® в пробирках, каждая из которых содержит 144 мг порошка Флуорофоса®.

Этот субстрат нефлуоресцентного ароматического монофосфорного эфира, 2-[2-бензотиазолил]-6'-гидроксибензотиазол фосфат (Флуорофос®). Субстрат Флуорофоса® остается стабильным в течение двух лет, если его хранить в закрытых пробирках при температуре от 2 °С до 8 °С.

5.2 Буферный раствор субстрата, буферный раствор диэтанолamina (DEA),  $c(\text{DEA}) = 2,4 \text{ моль/дм}^3$ , с pH 10,0 в пробирках вместимостью 240 см<sup>3</sup> каждая.

Буферный раствор субстрата остается стабильным в течение двух лет, если его хранить в закрытых пробирках при температуре от 2 °С до 8 °С.

### 5.3 Рабочий субстрат

Оставляют субстрат Флуорофоса® и буферный раствор субстрата до достижения комнатной температуры. Добавляют содержимое одной пробирки с буферным раствором субстрата (240 см<sup>3</sup>) к содержимому одной пробирки Флуорофоса® (144 мг) (см. 5.1) и хорошо перемешивают, переворачивая, в течение 3 мин. Используют желтое стекло для защиты против света.

Перед использованием полученный раствор выдерживают при комнатной температуре как минимум 30 мин.

Используют аналого-цифровой тест, описанный в 9.4.1.1, для проверки устойчивости готового к использованию субстрата.

Рабочий субстрат остается стабильным в течение 60 дней, если он защищен от света и хранится при температуре от 2 °С до 8 °С, или в течение 8 ч, если хранится при 38 °С. Не следует использовать рабочий субстрат, если получено показание выше 1200.

**Примечание** — Полученный объем рабочего субстрата (240 мл) является достаточным приблизительно для 115 тестов.

5.4 Рабочие калибровочные растворы, Флуорожелтый® (FY), 2-[2-бензотиазолил]-6'-гидроксибензотиазол в буферном растворе DEA.

Рабочие калибровочные растворы остаются стабильными в течение 18 мес, когда их хранят при температуре от 2 °С до 8 °С.

5.4.1 Калибровочный раствор А, содержащий 0 мкмоль/дм<sup>3</sup> Флуорожелтого®.

5.4.2 Калибровочный раствор В, содержащий  $17,24 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/дм<sup>3</sup> Флуорожелтого®.

5.4.3 Калибровочный раствор С, содержащий  $34,48 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/дм<sup>3</sup> Флуорожелтого®.

5.5 Раствор для ежедневного контроля прибора, содержащий  $34,48 \cdot 10^{-3}$  мкмоль/дм<sup>3</sup> Флуорожелтого®.

## 6 Аппаратура

6.1 Фильтрованный флуориметр с термостатически регулируемым держателем кюветы при поддержании температуры  $(38 \pm 1) \text{ °С}$  и правоугольной оптической системой, допускающей возбуждение при длине волны 440 нм и испускание при 520—560 нм (например, прибор Флуорофос®).

Измерения должны быть оптимизированы согласно инструкциям изготовителей.

6.2 Кюветы сменные, из нефлуоресцентного стекла, диаметром 12 мм и длиной 75 мм.

6.3 Пипетки.

6.3.1 Дозатор фиксированного объема, дозирующий по  $2,0 \text{ см}^3$ .

6.3.2 Пипетка вытеснительного типа или нагнетательная вместимостью  $0,075 \text{ см}^3$ .

6.3.3 Пипетка вместимостью  $2 \text{ см}^3$ .

6.4 Инкубаторный блок, поддерживающий температуру  $(38 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ , подходящий для помещения в них кювет.

6.5 Парафильм<sup>1)</sup> или другая подходящая пленка лабораторного класса.

6.6 Вихревая мешалка.

6.7 Водяная баня, поддерживающая температуру  $(63 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  и  $(95 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ .

6.8 Мерные колбы с одной меткой вместимостью  $100 \text{ см}^3$ .

## 7 Отбор проб

В лабораторию должна быть отправлена представительная проба. Ее следует оберегать от повреждений во время транспортирования или хранения.

*рекомендуется Отбор проб проводить по ГОСТ Р 26809 и [1].*

## 8 Подготовка к испытанию

### 8.1 Молоко, не содержащее щелочной фосфатазы

Приготавливают молоко без фосфатазы *для испытания*, тщательно дозируя требуемую порцию молока в пробирку или подходящий контейнер, следя, чтобы оно не касалось краев или стенок контейнера.

Помещают пробирку или контейнер с образцом молока в водяную баню, установленную на  $95 \text{ }^\circ\text{C}$ , нагревают до  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  и продолжают его подогрев в течение 5 мин при этой температуре. Температуру контролируют термометром или термисторным зондом, помещенным в центр пробирки или контейнера. *Затем образец быстро охлаждают.*

Таким образом обработанный образец молока тестируют, чтобы удостовериться, что активность щелочной фосфатазы меньше  $10 \text{ мЕ/л}$ .

### 8.2 Приготовление образца для испытаний

#### 8.2.1 Общие вопросы

Перед использованием все испытуемые образцы тщательно перемешивают, *не нагревая*.

#### 8.2.2 Пастеризованные испытуемые образцы

Пастеризованные испытуемые образцы используют в состоянии после поставки в требуемых количествах.

#### 8.2.3 Разбавление испытуемых образцов с высокими значениями ALP

Приготавливают разбавленные образцы молока, используя молоко без фосфатазы, для того чтобы их уровни активности щелочной фосфатазы ALP соответствовали аналитическому диапазону испытания ( $< 2000 \text{ мЕ/л}$ ). Разбавленные растворы хорошо перемешивают.

## 9 Проведение испытаний

### 9.1 Проверка рабочих характеристик прибора

Важно, чтобы до проведения испытания образцов была проведена проверка рабочих характеристик прибора на отклонение, рассеянное световое излучение и стабильность. *Все параметры фильтрованного флуориметра должны соответствовать требованиям б. 1.*

Контрольные тесты качества включают:

- ежедневный тест A/D (аналого-цифровое преобразование), выполняемый для проверки правильности функционирования оборудования путем измерения точности канала A/D преобразования и мониторинга A/D канала на отклонение по времени или температуре;
- ежедневный контрольный тест прибора с использованием ежедневного контрольного раствора в приборе для мониторинга любого электронного или оптического отклонения флуориметра.

Использование контрольных проверок системы и реактивов, описанных в 9.4, настоятельно рекомендуется для ежедневного мониторинга параметров точности прибора.

<sup>1)</sup> Парафильм является примером подходящего продукта, выпускаемого в промышленности.

## 9.2 Калибровка прибора

Калибровочные кривые обычно стабильны. Прибор следует калибровать каждые три месяца. Однако в случае, когда флуориметр устанавливают впервые или если процедуры обслуживания влияют на сохраненную калибровку, или если проверенные контрольные значения показывают неприемлемые результаты, то его калибруют повторно.

Если обнаружены изменения в калибровочной кривой, прибор также калибруют повторно, используя новый набор калибровочных растворов А, В и С (см. 5.4). Калибровочную кривую устанавливают для каждого типа испытываемого продукта.

Перед использованием калибровочных растворов А, В и С смешивают, плавно переворачивая. С помощью пипетки переносят по 2,0 см<sup>3</sup> калибровочных растворов А, В и С соответственно, каждого в двух экземплярах, в шесть предварительно маркированных кювет. Помещают кюветы в инкубаторный блок, установленный на 38 °С, и предварительно нагревают в течение 10 мин.

С помощью нагнетательной или вытеснительной пипетки добавляют 0,075 см<sup>3</sup> молока, не содержащего щелочной фосфатазы, в шесть кювет. Закрывают кюветы парафильмом (см. 6.5). Перемешивают их содержимое с помощью вихревой мешалки в течение 5 с или путем мягкого переворачивания кювет. Возвращают кюветы в инкубационный блок. Выполняют калибровку в течение 10 мин после добавления испытываемого образца в калибровочный раствор.

Начиная с калибровочного раствора А, выполняют следующие установившиеся процедуры калибровки. Перед помещением кювет в фильтровальный Флуорофос® нажимают «CALIB» и выбирают меню «ALP Diagu» (щелочная фосфатаза в молочных продуктах). Прокручивают меню и, когда отображается продукт, который должен калиброваться, нажимают «ENTER». Начиная с калибровочного раствора А помещают этот раствор во флуориметр и нажимают «START». Когда измерение закончено, измеряют второй калибровочный раствор А.

Такую же процедуру выполняют для калибровочных растворов В и С, пока все процедуры не будут закончены. Прибор Флуорофос® автоматически вычисляет значение флуоресценции, полученное с калибровочными растворами В и С в сравнении с калибровочным раствором А, чтобы установить калибровочный коэффициент прибора.

Когда калибровка выполнена, приступают к анализу испытываемых образцов.

### 9.3 Определение

С помощью дозатора фиксированного объема переносят 2,0 см<sup>3</sup> субстрата в маркированную кювету. Помещают кювету в инкубаторный блок, установленный на 38 °С, и нагревают в течение 15 мин.

С помощью пипетки добавляют 0,075 см<sup>3</sup> хорошо перемешанного испытываемого образца (см. 8.2.2 или 8.2.3) к субстрату. Накрывают кювету парафильмом (см. 6.5). Сразу же перемешивают ее содержимое, используя вихревую мешалку (см. 6.6) в течение 5 с или плавно переворачивая кювету. Вытирают кювету снаружи мягкой тканью и помещают ее в фильтровальный флуориметр.

Нажимают клавишу «TEST», появляется надпись «ALP Diagu», затем нажимают «ENTER». Прокручивают меню и нажимают «ENTER», когда отображается продукт, который должен анализироваться. Затем нажимают клавишу «START», чтобы начать испытание. На дисплее будет идти обратный отсчет 60 с, пока субстрат и образец нагреется до 38 °С. Через 60 с флуориметр начинает измерение, показывая флуоресценцию образца в единицах флуоресценции (FLU). Отображение начинается с 200 FLU и медленно возрастает в течение следующих двух минут. В конце третьей минуты периода прибор Флуорофос автоматически выполняет необходимые вычисления и отображает идентификационный номер образца, активность ALP в миллиединицах на литр и среднее увеличение флуоресценции, если это было предварительно задано. Затем эта информация будет напечатана.

Делят разность между двумя показаниями флуоресценции на время интервала (записанное в минутах), чтобы получить среднее увеличение флуоресценции в минуту (F/мин). Используют значение F/мин, чтобы вычислить активность ALP для испытываемого образца.

Прибор может отобразить на дисплее и распечатать сообщение «Error: Unstable Reading, Repeat Test» (Ошибка. Нестабильное показание. Повторить испытание). В случае очень высоких результатов нужно разбавить испытываемый образец термообработанным молоком, не содержащим фосфатазы, и провести другое испытание.

Для очень низких результатов (обычно 6 FLU/мин), когда нестабильные показания получаются чаще, оставляют кювету с образцом в камере Флуорофос® и проводят другое определение. Тогда обычно получается действительный результат. Однако, если снова возникает ошибка из-за нестабильных показаний, повторяют все определение с новым испытываемым образцом.

### 9.4 Контрольные тесты

#### 9.4.1 Контрольные проверки системы и реагентов

##### 9.4.1.1 Тест А/Д

При использовании прибора Флуорофос тест A/D проводят ежедневно перед испытанием.

Отмеряют 2,0 см<sup>3</sup> ежедневного контрольного раствора для прибора в маркированную кювету. Помещают кювету в инкубаторный блок, установленный на 38 °С, на 10 мин.

Получают доступ к тесту A/D через меню «SETUP». Нажимают клавишу «SETUP», затем выбирают пункт меню «A/D Test», нажимая <0>. При пустом держателе кюветы нажимают «START». Ждут, когда цифры, появляющиеся на экране дисплея, стабилизируются.

Показание дисплея должно быть 302 ± 4. Если показание вне этого диапазона, очищают фильтры возбуждения и испускания и повторяют тест A/D.

Вставляют предварительно нагретую кювету в держатель кюветы. Закрывают крышкой. Когда показание дисплея стабильно, записывают отображаемое значение, которое должно быть 602 ± 12. Если значение вне этого диапазона, используют маленькую отвертку из поставки и медленно поворачивают винт потенциометра с левой стороны прибора по часовой стрелке или против, как необходимо, пока показание дисплея не будет 602.

Тест A/D можно также использовать для проверки пригодности готового к использованию рабочего субстрата. Только что приготовленный субстрат в режиме A/D обычно дает показание около 650 FLU, которое увеличивается со временем.

Не следует использовать рабочий субстрат, когда на дисплее получено показание выше 1200 FLU.

**9.4.1.2 Позитивный, негативный и PhosphaCheck-N™ (контроль фосфатазы) механизмы контроля**  
После калибровки канала, используемого для коровьего молока, анализируют три контрольных раствора (т. е. позитивный, негативный и PhosphaCheck-N™) путем добавления 75 мм<sup>3</sup> каждого контрольного раствора к 2 см<sup>3</sup> предварительно нагретого субстрата. Выполняют тест ALP.

Показание для негативного контроля должно быть < 10, а для PhosphaCheck-N™ < 40.

#### **9.4.2 Испытуемый образец и механизмы контроля, связанные с прибором**

##### **9.4.2.1 Тест негативного контроля**

Включают тест негативного контроля с каждой партией испытуемых образцов. Нагревают испытуемый образец, как описано в 8.1. Показание прибора должно быть меньше 10 МЕ/л, то есть флуоресцентная активность не детектируется. Если значение превышает 10 МЕ/л, повторяют действие 9.4.1.2.

##### **9.4.2.2 Тест позитивного контроля**

Включают один или больше механизмов позитивного контроля с каждой партией испытуемых образцов. Приготавливают образцы аналогичного или почти аналогичного состава, используя образцы сырого молока, разбавленные молоком без фосфатазы.

#### **9.4.3 Тест на интерферирующие вещества**

Если значения ALP получены выше ожидаемых, добавляют в кювету с помощью пипетки 0,075 см<sup>3</sup> испытуемого образца и 2,0 см<sup>3</sup> калибровочного раствора А, который предварительно нагревали в инкубаторном блоке, установленном на 39 °С, в течение 10 мин, и перемешивают.

Помещают кювету с этой смесью в прибор Флуорофос® и испытывают, как в 9.2. Если полученное значение превышает 20 МЕ/л, значит, присутствует интерферирующее вещество. В этом случае повторяют испытание со свежим образцом.

#### **9.4.4 Контрольный тест на термостойкую щелочную фосфатазу**

Добавляют другой испытуемый образец в пробирку. Вставляют термометр или термисторный зонд в пробирку и все помещают в водяную баню, установленную на 63 °С. Когда испытуемый образец нагревают до 63 °С, его выдерживают при этой температуре 30 мин, затем быстро охлаждают. Определяют остаточную активность фосфатазы согласно 9.3. Любая остаточная активность обусловлена присутствием термостойкой микробной щелочной фосфатазы.

## **10 Вычисление и выражение результатов**

### **10.1 Калибровочный коэффициент**

Результаты вычисляют автоматически прибором Флуорофос® посредством алгоритма, встроенного в фильтровальный флуориметр. Если результаты будут вычисляться вручную, действуют следующим образом.

Записывают значения флуоресценции калибровочных растворов В и калибровочного раствора С (см. 5.4.3), сравнивают с калибровочным раствором А (см. 5.4.1), установленным на нулевую флуоресценцию на фильтровальном флуориметре.

Калибровочный коэффициент  $K$  вычисляют по формуле

$$K = \frac{F_C - 2F_B}{4}, \quad (1)$$



где  $F_C$  — значение флуоресценции, полученное путем измерения калибровочного раствора С в сравнении с калибровочным раствором А, установленным на нулевую флуоресценцию (см. 9.2);

$F_B$  — числовое значение флуоресценции, полученное путем измерения калибровочного раствора В в сравнении с калибровочным раствором А, установленным на нулевую флуоресценцию (см. 9.2).

### 10.2 Вычисление ALP

Активность щелочной фосфатазы  $A_p$ , мЕ/л, вычисляют по формуле

$$A_p = \frac{F_{av} c_B}{KV} f_r \quad (2)$$

где  $F_{av}$  — среднее значение флуоресценции, производимой в минуту (см. 9.3), измеренное в сравнении с калибровочным раствором А (см. 9.2) от начала второй минуты до конца третьей;

$c_B$  — концентрация Флуорожелтого® в калибровочном растворе В, в микромолях на 2 см<sup>3</sup> калибровочного раствора;

$K$  — калибровочный коэффициент по (1), см<sup>3</sup>;

$V$  — объем испытуемого образца;

$f_r$  — коэффициент разбавления ( $1 \cdot 10^6$ ) для пастеризованных образцов; для испытуемых образцов сырого молока  $f$  равно  $1 \cdot 10^8$ ; для испытуемых образцов термообработанного молока умножают  $f = 1 \cdot 10^6$  на коэффициент разбавления  $f_i$  испытуемого образца ( $f = f_i \cdot 10^6$ ).

### 10.3 Выражение результатов испытания

Результаты испытания выражают с точностью до ближайшего целого знака миллиединицы.

## 11 Прецизионность

Прецизионность метода и результатов измерений рассчитывают по ГОСТ Р ИСО 5725-1 и ГОСТ Р ИСО 5725-2.

### 11.1 Межлабораторное испытание

Детали межлабораторного испытания приведены в приложении А. Значения, полученные из этого испытания, можно применять для других диапазонов и матриц.

### 11.2 Повторяемость

Абсолютная разность между двумя независимыми результатами единичных испытаний, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором, использующим одно и то же оборудование, в течение короткого интервала времени, должна не более чем в 5 % случаев превышать значения для  $r$ , приведенные в таблице 1.

Т а б л и ц а 1 — Значения предела повторяемости  $r$

Продукт	Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
	20	40	100	350	500
Коровье молоко	—	21,50	22,10	89,60	93,30
Овечье молоко	10,43	16,26	33,67	96,82	99,76
Козье молоко	8,63	7,98	26,20	42,83	28,56

### 11.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя результатами единичных испытаний, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в разных лабораториях разными операторами, использующими разное оборудование, должна не более чем в 5 % случаев превышать значения для  $R$ , приведенные в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 — Значения предела воспроизводимости  $R$

Продукт	Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
	20	40	100	350	500
Коровье молоко	—	31,80	51,00	136,40	211,10
Овечье молоко	16,63	20,34	46,63	170,24	233,10
Козье молоко	10,69	20,55	28,71	127,89	87,51

## 12 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать в себя:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;
- метод отбора проб и приготовления образцов, если известно;
- используемый метод испытания;
- все рабочие детали или рассматриваемые как факультативные, а также детали всех инфидентов, которые могли повлиять на результат(ы) испытания;
- полученный(е) результат(ы) или, если проверялась повторяемость, окончательно указанный полученный результат.

### Приложение А (справочное)

#### Межлабораторное испытание

Межлабораторное испытание, включающее 13 лабораторий из семи стран (США, Великобритания, Франция, Норвегия, Италия, Нидерланды и Швейцария), проводилось согласно [2] и [3] на четырех типах коровьего молока и на овечьем и козьем молоке. Испытание было закончено в марте 2004 г.

Полученные результаты были подвергнуты статистическому анализу согласно [2] и [3], из которого получены данные прецизионности, приведенные в таблицах А.1 и А.2. Данные выражены как значения относительного стационарного отклонения в процентах и представляют сводные статистические результаты межлабораторного исследования. Общий отчет об исследовании опубликован в [4].

Т а б л и ц а А.1 — Относительное стандартное отклонение повторяемости

В процентах

Продукт		Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
		20	40	100	350	500
Коровье молоко	Цельное	16,20	22,51	6,79	4,60	8,37
	Полужирное	13,15	13,19	7,53	12,72	2,97
	Обезжиренное	—	13,09	7,94	5,32	5,84
	Ароматизированное <sup>1)</sup>	—	12,85	6,12	4,68	3,33
	Коровье молоко (все)	—	18,66	7,69	8,89	6,48
Овечье молоко		11,68	12,04	10,68	7,86	5,69
Козье молоко		13,81	5,94	7,29	3,65	1,74

<sup>1)</sup> Для испытания ароматизированного молока использовали молоко с добавлением вкуса клубники.

Т а б л и ц а А.2 — Относительное стандартное отклонение воспроизводимости

В процентах

Продукт		Уровень активности щелочной фосфатазы, мЕ/л				
		20	40	100	350	500
Коровье молоко	Цельное	16,20	25,44	15,96	6,60	17,29
	Полужирное	24,30	17,19	16,45	16,86	9,79
	Обезжиренное	—	27,21	19,01	9,81	12,37
	Ароматизированное <sup>1)</sup>	—	22,13	11,26	10,47	9,50
	Коровье молоко (все)	—	27,60	17,69	13,53	14,66
Овечье молоко		18,62	15,07	14,79	13,82	13,30
Козье молоко		17,11	15,31	7,98	10,91	5,33

<sup>1)</sup> Для испытания ароматизированного молока использовали молоко с добавлением вкуса клубники.

П р и м е ч а н и е — В некоторых случаях было недостаточно данных для коровьего молока, чтобы вычислить значения  $g$  и  $R$  при уровне активности 20 мЕ/л. Причина в том, что прибор Флуорофос® записывает значение < 10 мЕ/л для очень низких значений ALP и нет принятого статистического механизма для обработки такого результата. Это означает, что все результаты, правильно записанные как < 10 мЕ/л, пришлось исключить из статистических вычислений.

### Библиография

- [1] ИСО 707:1997 Молоко и молочные продукты. Руководящие указания по подбору проб  
[2] ИСО 5725-1:1994 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений.  
Часть 1. Общие принципы и определения  
[3] ИСО 5725-2:1994 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений.  
Часть 2. Основной метод для определения повторяемости и воспроизводимости  
стандартного метода измерения  
[4] HARDING, F and GARRY, E Collaborative evaluation of a fluometric method for measuring alkaline phosphatase  
activity in cow's, sheep's and goat's milk. *J. Food Prot.*, 68(5), 2005, pp. 1047—1053

---

УДК 637.544:006.354

ОКС 67.100

Н09

Ключевые слова: молоко, молочные продукты, молочные напитки, флуометрический метод, активность щелочной фосфатазы

---

Редактор Л.В. Коретникова  
Технический редактор В.Н. Прусакова  
Корректор В.Е. Нестерова  
Компьютерная верстка А.Н. Золотаревой

Сдано в набор 09.12.2008. Подписано в печать 27.01.2009. Формат 80 × 84<sup>1/8</sup>. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.  
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,10. Тираж 393 экз. Зак. 29.

---

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4  
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru  
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.  
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 8.