

УДК 636.085.087.7, ГРНТИ 68.39.15

4.3.1. Технологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса (технические науки, сельскохозяйственные науки)

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕССА ПРОБОПОДГОТОВКИ И ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА КОРМОВ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Павлова Наталья Андреевна
Мл. научный сотрудник лаборатории «Физико-химического анализа»
E-mail: pavlova.n_a@mail.ru

Гнеуш Анна Николаевна
Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
SPIN-код: 2342-8682, AuthorID: 723628
E-mail: gneush.anna@yandex.ru

Брагин Артем Александрович
Лаборант лаборатории «Физико-химического анализа»
E-mail: bunss16@yandex.ru

Базык Артем Дмитриевич
Ассистент кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики
SPIN-код автора: 1422-6312 AuthorID: 1125021
E-mail: bazyk.a@edu.kubsau.ru
Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина. Россия, 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13

Исследована возможность оптимизации этапов определения аминокислотного состава кормов методом капиллярного электрофореза с применением существующих аттестованных методик с целью повышения показателей качества результатов анализа. Разработана процедура подготовки капилляра перед проведением измерений для получения стабильных, воспроизводимых электрофореограм с высокой разрешающей способностью. Установлено оптимальное время для получения белковых гидролизатов кислотным способом. Определение аминокислотного состава осуществляли путем получения ФТК-производных аминокислот. Проведена качественная и количественная оценка показателя расширенной неопределенности результатов анализа при реализации в условиях одной лаборатории. Качественную оценку бюджета неопределенности осуществляли с использованием принципов причинно-следственного моделирования и графического способа представления причинно-следственных связей -

UDC 636.085.087.7, GRNTI 68.39.15

4.3.1. Technologies, machinery and equipment for the agro-industrial complex (technical sciences, agricultural sciences)

IMPROVEMENT OF THE PROCESS OF SAMPLE PREPARATION AND ANALYSIS FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMINO ACID COMPOSITION OF FEED BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Pavlova Natalia Andreevna
Junior Researcher at the Laboratory of Physical and Chemical Analysis
E-mail: pavlova.n_a@mail.ru

Gneush Anna Nikolaevna
Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor
RSCI SPIN-code: 2342-8682, AuthorID: 723628
E-mail: gneush.anna@yandex.ru

Bragin Artyom Alexandrovich
Laboratory assistant of the laboratory of "Physical and chemical analysis"
E-mail: bunss16@yandex.ru

Bazyk Artyom Dmitrievich
Assistant of the Department of Biotechnology, Biochemistry and Biophysics
RSCI SPIN-code: 1422-6312 AuthorID: 1125021
E-mail: bazyk.a@edu.kubsau.ru
Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia

In this study we optimized analysis of aminoacidic composition of animal feeds by capillary electrophoresis to improve the quality of analysis results. To obtain stable, reproducible electropherograms with high resolution was developed a procedure of preparing the capillary before and after the analysis. Step of preparation of acidic hydrolysates was optimized by determining optimal time of hydrolysis. A qualitative and quantitative evaluation of the expanded uncertainty indicator of the analysis results was carried out when implemented under the same laboratory. A qualitative assessment of uncertainty was carried out using the above cause-and-effect study and a graphical method of displaying cause-and-effect relationships - the Ishikawa diagram. A quantitative assessment of the expanded uncertainty was calculated in accordance with the RMG-61 algorithm based on the results of numerous parallel determinations of the aminoacidic composition of feed samples of various natures. In the process of increasing the hydrolysis time from 3 to 21 hours, an increase in the total amino acid content in cat food

диаграммы Исикавы. Количественную оценку расширенной неопределенности проводили в соответствии с алгоритмом РМГ-61 на основе результатов многочисленных параллельных определений аминокислотного состава образцов корма различной природы. В процессе увеличения времени гидролиза с 3 до 21 часа наблюдался рост суммарного содержания аминокислот в образцах корма для кошек (20,1% – 28,7%) и собак (23,4% – 32,6%). В среднем показатель расширенной относительной стандартной неопределенности на 40 % меньше предусмотренного методикой

samples (20.1% – 28.7%) and dogs (23.4% – 32.6%) was observed. On average, the extended relative standard uncertainty index is 40% less than the one provided by the methodology

Ключевые слова: КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ, КОРМА, КОМБИКОРМА, КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ, АМИНОКИСЛОТЫ, ПРОМЕЖУТОЧНАЯ ПРЕЦИЗИОННОСТЬ, ПРИЧИННО-СЛЕДСТВЕННАЯ ДИАГРАММА, НЕОПРЕДЕЛЕННОСТЬ

Keywords: CAPILLARY ELECTROPHORESIS, FEED, FEED ADDITIVES, AMINO ACIDS, INTERMEDIATE PRECISION, CAUSAL DIAGRAM, UNCERTAINTY

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-200-028>

Введение

Производство не только качественных, но и безопасных продуктов питания человека и животных является важным для любого производителя. [1]. Сбалансированность рациона выступает залогом правильного развития организма и его существования, соответственно при формировании рациона особое внимание следует уделять таким микро- и макронутриентам, которые не могут самостоятельно синтезироваться в организме.

Белок является важнейшей структурной единицей всех живых систем. Белковая молекула является высокомолекулярным органическим соединением, состоящим из многочисленной последовательности аминокислот, которым он обязан своим функциям в биохимических процессах организма. Особую значимость имеют незаменимые аминокислоты, отсутствие которых делает невозможным синтез необходимых белков, что обуславливает нарушение многочисленных метаболических процессов. В соответствии с этим баланс аминокислот в рационе питания в зависимости от вида и половозрастной группы

<http://ej.kubagro.ru/2024/06/pdf/28.pdf>

животного является важной составляющей кормления и кормопроизводства, в частности.

При разработке новых рационов питания и оценке качества уже имеющихся необходима как оценка готового продукта по аминокислотному составу, так и различных сырьевых источников, что важно при составлении рациона и формировании кормовой базы [2], а с ростом количества на рынке различных производителей возрастает потребность в надежном и безопасном методе контроля аминокислотного состава.

Широкое распространение при определении аминокислот получили такие методы, как капиллярный электрофорез (КЭ) [2,3] и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [1,4]. В большинстве аккредитованных лабораторий исследования аминокислотного состава проводят согласно аттестованным методикам [5] для метода ВЭЖХ и [6,7] при использовании метода КЭ. Согласно [5] подготовленную пробу (высушенную и измельченную) подвергают окислению (около 16 часов), далее гидролизу (23 часа), установке pH и наконец проведению хроматографии. При этом вся процедура определения сопровождается применением большого количества опасных и токсичных реагентов. Заменой данного методики является [6] или [7]. Применение системы капиллярного электрофореза позволяет избежать использование большого количества растворителей. Применение данного метода не требует длительной процедуры окисления, а время гидролиза занимает от 3 до 24 часов [8]. К недостатком данных методик [6,7], можно отнести жесткие условия гидролиза, в результате которых, при длительном воздействии, возможно разрушение ряда аминокислот (аргинин, лизин и цистин [8]). Негативно на результатах сказывается низкая чувствительность прямого определения аминокислот методом КЭ [8,9]. Для преодоления данных ограничений в методиках [6,7] проводят

косвенной определению, путем получения ФТК производных. Это позволяет получить равные условия чувствительности для спектрофотометрического детектора при многокомпонентном определении широкого ряда аминокислот в одной пробе. Однако, в совокупности все эти факторы приводят к получению высоких значений расширенной неопределённости методики от 30 до 50% [7].

Целью данной работы была оптимизация методических особенностей проведения количественного определения аминокислотного состава методом КЭ для улучшения метрологических характеристик анализа.

Материалы и методы

Система капиллярного электрофореза Капель исп. "Капель-105М" номер по государственному реестру 17727-11 с заводским номером 2701, оснащенная кварцевым капилляром с внутренним диаметром 50 мкм, общая длина 75 см; фотометрическим детектором с диапазоном длин волн от 190 до 380 нм, и программным обеспечением «Эльфран-3.2.5» на основе персонального компьютера; весы лабораторные первого класса точности номер по государственному реестру 68363-17 с заводским номером С135494941 с ценой деления 0,1 мг; рН-метр/иономер ИТАН номер по государственному реестру 16767-08 с заводским номером 0301171 с основной погрешностью измерений $\pm 0,005$ единиц рН в комплекте с электродом стеклянным комбинированным ЭСК-10603/7 номер по государственному реестру 16767-08 с заводским номером А00983; дозаторы переменного объема 10–100 мм³, 100–1000 мм³, 1000–5000 мм³ с метрологическими характеристиками, соответствующими ГОСТ 28311-89; вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72; строительный фен Electrolite Ф 2400Е; центрифуга лабораторная с частотой вращения не менее 83 с⁻¹ (5000 об/мин); бюксы стеклянные с притертой крышкой

местимостью 10–15 см³ по ГОСТ 25336-82; кварцевые или фарфоровые чашки вместимостью 25–30 см³ по ГОСТ 19908-90; стаканы химические любого исполнения вместимостью 250, 500 см³ по ГОСТ 25336-82; виалы с завинчивающимися термостойкими крышками и фторопластовыми вкладышами вместимостью 15–25 см³ для проведения гидролиза; виалы с завинчивающимися крышками вместимостью 5–30 см³ (для хранения растворов) М 04-38-2009, издание 2014; пробирки одноразовые типа «Эппендорф» вместимостью 1,5 см³ по ТУ 62-2-300-80; воронки лабораторные по ГОСТ 25336-82; фильтры обеззоленные «синяя лента» по ТУ 6-09-1678-95; шприц медицинский одноразовый типа «Луер» вместимостью 10 см³ по ГОСТ ISO 7886-1-2011; оправа для фильтра, например, производства фирмы «Sartorius Stedim», кат. номер 16517; фильтры целлюлозно-ацетатные, размер пор 0,2 мкм, диаметр 25 мм по ТУ 2265-015-43153636-2015; натрия гидроксид по ГОСТ 4328-77, ч.д.а.; соляная кислота по ГОСТ 3118-77, х.ч.; натрий углекислый 10-водный (далее карбонат натрия) по ГОСТ 84-76, ч.д.а; натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный (далее гидрофосфат натрия) по ГОСТ 4172-76, х.ч.; натрий фосфорнокислый однозамещенный дигидрат (далее дигидрофосфат натрия) по ГОСТ 245-76, ч.д.а; набор L-аминокислот, массовая доля основного вещества не менее 98%, производства фирмы «Sigma-Aldrich»; фенилизотиоцианат, массовая доля основного вещества 98%, например, производства фирмы «Sigma-Aldrich» кат. номер 139742; β-циклодекстрин, массовая доля основного вещества 98,9%, производства фирмы «PanReas AppliChem», кат. номер A2147.

1. Приготовление проб

Отбор и подготовку проб для анализа проводили согласно ГОСТ 13496.0-2016 [10], ГОСТ ISO 6498-2014 [11]. Подготовленные пробы с массами (100±0,2) мг помещали в виалу для гидролиза, заливали 10 см³ раствора соляной кислоты (1:1) герметично закрывали крышкой помещали

в сушильный шкаф. Кислотный гидролиз проводили при температуре 110°C варьируя время проведения реакции 3, 9, 15, 21 соответственно. Полученные гидролизаты охлаждали при комнатной температуре, после чего содержимое виал фильтровали через фильтр «синяя лента». Для получения ФТК-производных в стеклянные бюксы помещали по 50 мм³ фильтрата. Растворы выпаривали досуха в струе теплого воздуха при температуре 60°C. К сухим остаткам добавляли 150 мм³ раствора карбоната натрия и 300 мм³ раствора ФИТЦ. Полученные растворы выдерживали 35 минут при комнатной температуре после чего повторяли процедуру получения сухих остатков. Полученные сухие остатки растворяли в 500 мм³ дистиллированной воды после чего переходили стадии анализа.

2. Результаты и обсуждения

Метод капиллярного электрофореза получил широкое распространение при определении аминокислотного состава кормов, комбикормов и кормовых добавок благодаря своей эффективности и отсутствию необходимости применения высокотоксичных растворителей («зеленая химия») [2]. В сравнении с методом высокоэффективной жидкостной хроматографии капиллярный электрофорез имеет ряд значительных преимуществ, таких как лучшее разрешение, селективность, чувствительность при одновременном многокомпонентном определении [1].

Однако показатели точности существующих аттестованных методик [3,4] (относительная расширенная неопределенность) определения аминокислотного состава составляют от 30 до 50 %. Важность данного показателя для оценки качества корма заставило поставить вопрос о возможности снижения показателя неопределенности методики при реализации в лаборатории, путем оптимизации условий пробоподготовки,

так как этот этап влияет на значение прецизионности, которая дает наибольший вклад в неопределенность анализа [5,12,13].

Согласно методике [3] предлагается четыре схемы проведения анализа, которые отличаются процедурой подготовки проб, условиями электрофоретического определения, перечнем определяемых аминокислот. Вне зависимости от выбранной схемы анализа этап подготовки проб включает стадию гидролиза, который проводят в течении 14-16 часов. С целью определения оптимального времени гидролиза, был спланирован и поставлен эксперимент по определению аминокислотного состава проб корма для стерилизованных кошек и корма для щенков с использованием схемы анализа № 1 (рис. 1), предлагаемой методикой.



Рисунок 1 - Последовательность этапов анализа согласно схеме №1

Предварительно была проведена работа по определению оптимальных условий проведения анализа. Условия анализа: этап ввода пробы - время $t = 5$ сек, напряжение $U = 0$ кВ, давление $P = 30$ мбар; этап измерения - температура: 30.0°C ; время 1199 сек, напряжение $U = 25$ кВ, давление $P = 0$ мбар, длина волны $W = 254$ нм. Состав буферного электролита: 30 ммоль/л фосфат-ионов, 4 ммоль/л β -циклодекстрина. Параметры напряжения оптимизировали путем варьирования данного параметра в диапазоне от 15 до 30кв. Установлено оптимальное значение (25кв), для большинства ФТК производных аминокислот.

Опытным путем установлено, что проведение промывки капилляра раствором фонового электролита и 0,1М раствора щелочи согласно рекомендациям методики приводит к снижению разрешающей способности определения аналитов. Определяли содержание аминокислот в образце корма до промывки капилляра щелочью А) и после Б), В) (рис.2).

Проверка данных полученных в условиях повторяемости показала отрицательный результат. Разность между двумя результатами превышает рассчитанный предел повторяемости. Полученные данные представлены в таблице 1.

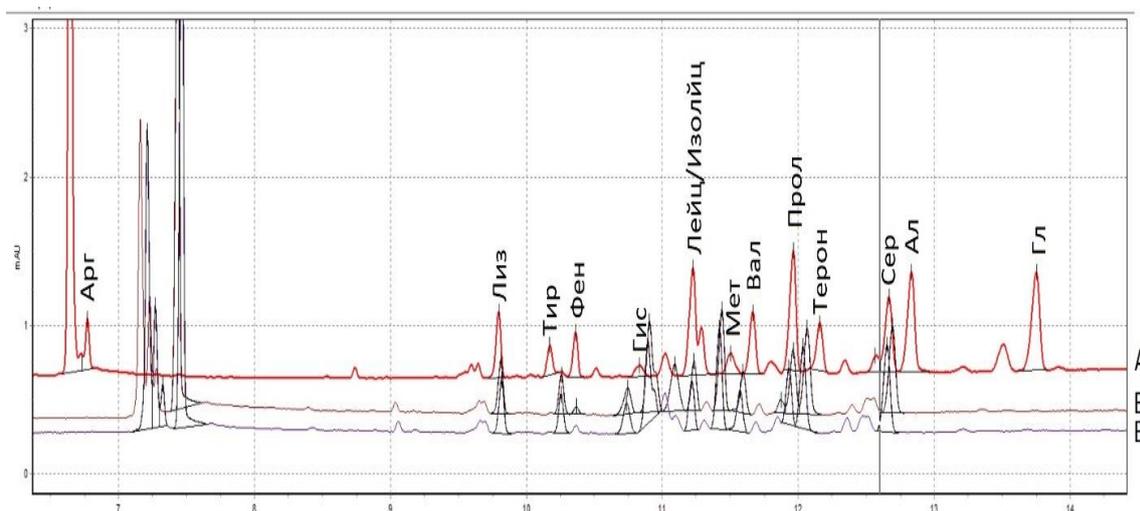


Рисунок 2 - А) До промывки капилляра щелочью; Б, В) После капилляра промывки щелочью

Таблица 1 – измерения массовой доля аминокислоты в пробе до оптимизации

Наименование	Массовая доля до промывки X, %	Массовая доля после промывки X, %	Расхождение между повторными определениями, $ X_{max}-X_{min} $	Среднее значение, $X_{ср}$	Предел повторяемости $0,01 \cdot X_{ср} \cdot r$
Лейц/Изолейц	0,87	0,66	0,21	0,76	0,17
Треонин	0,48	0,40	0,09	0,44	0,18
Гистидин	0,25	0,50	0,25	0,37	0,17
Лизин	0,43	0,36	0,07	0,39	0,13
Валин	0,61	0,42	0,19	0,51	0,20
Серин	0,75	0,56	0,19	0,66	0,19

Аланин	0,89	0,66	0,23	0,78	0,18
Тирозин	0,40	0,50	0,10	0,45	0,08
Аргинин	0,81	-	-	-	0,09
Фенилаланин	0,57	0,09	0,48	0,33	0,17
Пролин	1,03	0,79	0,24	0,91	0,12
Метионин	0,33	0,76	0,43	0,54	0,16
Глицин	0,75	0,54	0,22	0,64	0,09

Для решения этой проблемы промывку щелочным раствором заменили на промывку 0,1М раствором соляной кислоты, а также увеличили время промывки дистиллированной водой до 5 минут (рис.3).

Полученные данные представлены в таблице 2. Полученные результаты прошли контроль приемлемости в условиях повторяемости, расхождение между результатами не превышает предела повторяемости.

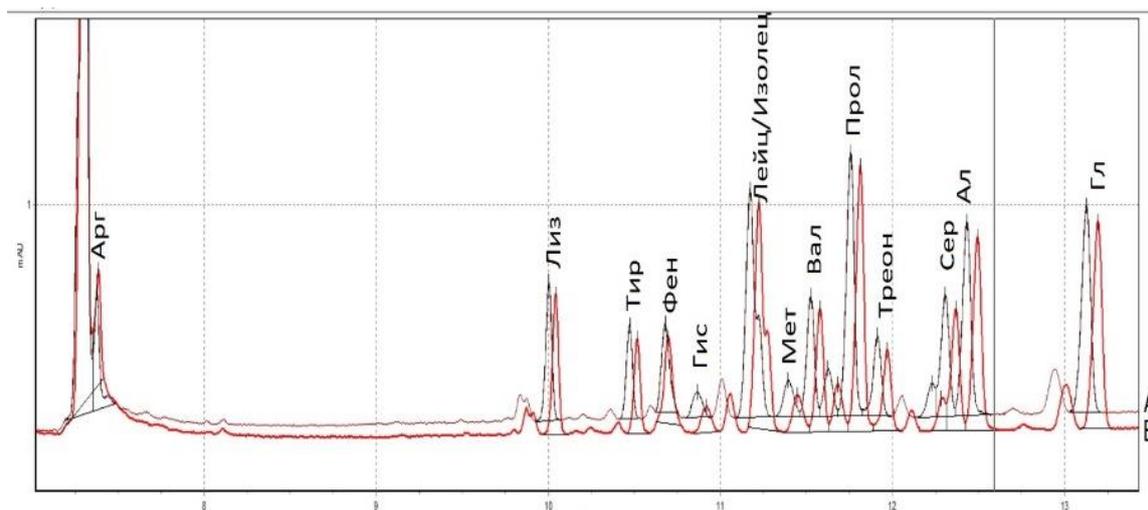


Рисунок 3 - А) До промывки капилляра кислотой; Б, В) После промывки капилляра кислотой и увеличения времени промывки водой

Таблица 2 - массовая доля аминокислоты в пробе корма после оптимизации условий

Наименование	Массовая доля до промывки X, %	Массовая доля после промывки X, %	Среднее значение, X _{ср}	Расхождение между повторными определениями X _{max} -X _{min}	Предел повторяемости 0,01*X _{ср} *r
Лейц/Изолец	0,73	0,75	0,74	0,02	0,23
Треонин	0,37	0,37	0,37	0,00	0,12
Гистидин	0,22	0,22	0,22	0,00	0,07

Лизин	0,40	0,40	0,40	0,00	0,12
Валин	0,51	0,50	0,51	0,01	0,16
Серин	0,50	0,51	0,51	0,01	0,16
Аланин	0,68	0,69	0,69	0,01	0,21
Тирозин	0,52	0,50	0,51	0,02	0,16
Аргинин	0,88	0,87	0,87	0,01	0,27
Фенилаланин	0,63	0,63	0,63	0,00	0,19
Пролин	0,99	0,98	0,99	0,01	0,31
Метионин	0,26	0,25	0,25	0,01	0,08
Глицин	0,60	0,60	0,60	0,00	0,19

Первая схема анализа предполагает использование кислотного способа получения белковых гидролизатов с последующим получением ФТК-производных «высвобожденных» аминокислот. Образцы корма анализировали в 5 сериях по 3 параллельных определения в каждой серии. Время гидролиза в процессе пробоподготовки устанавливали соответственно: 3, 9, 15, 21 час.

Любые отклонения от условий проведения анализа, прописанных аттестованной методикой, предполагает подтверждение показателей качества полученных результатов. Для этого использовали 3 характеристики: правильность, прецизионность и неопределенность. В данной работе расчет указанных показателей осуществлялся согласно Руководству ЕВРАХИМ / СИТАК СГ 4 «Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях» [14], ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 [15], ГОСТ Р ИСО 5725-3-2011 [16], ГОСТ 34100.3-2017 [17], а также других руководящих документов и пособий [18-23].

Неопределенность – параметр результатов измерений, характеризующий разброс значений, которые с определенной доверительной вероятностью могут быть приписаны измеряемой величине [21]. Источники неопределенности включают в себя все факторы, которые могут повлиять на результат измерений. Для корректной количественной оценки неопределенности, проводится выявление всех ее источников чаще всего с использованием причинно-следственной диаграммы – диаграммы

Исикавы [15,16]. Такой способ представления является наиболее наглядным и удобным, позволяет правильно составить бюджет неопределенности с использованием принципа приведения косвенного измерения к прямому [17].

Методика [3] предназначена для определения массовой доли аминокислот, расчёт показателя производится по формуле 1:

$$X = \frac{100 \cdot V_{\text{гид}} \cdot V_{\text{кон}} \cdot C_{\text{изм}}}{1000 \cdot m \cdot V_{\text{ал}}} \quad (1)$$

Где X – массовая доля аминокислоты в пробе, %;

$C_{\text{изм}}$ – Измеренное значение массовой концентрации аминокислоты в анализируемом растворе, мг/дм³;

m – масса навески пробы, мг;

$V_{\text{гид}}$ – общий объем гидролизата, см³;

$V_{\text{кон}}$ – общий конечного (анализируемого) раствора, мм³;

$V_{\text{ал}}$ – объем аликвотной порции гидролизата, взятый для получения ФТК- производных, мм³;

100 – множитель для выражения результатов в процентах;

1000 – коэффициент согласования размерности единиц измерения объема.

В формуле 1 отражены ключевые параметры влияющие на результат измерения, они изображены на причинно-следственной диаграмме в виде основных «косточек». Дополнительные «косточки» внесены с учетом анализа этапов методики анализа (рис.4).

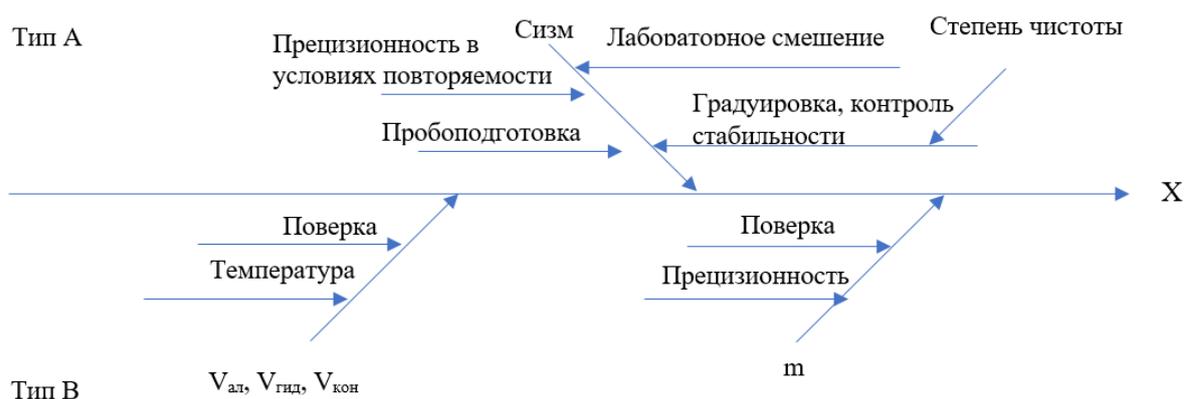


Рисунок 4 - Причинно-следственная диаграмма

В зависимости от способа оценивания неопределенности входной величины составляющие неопределённости можно разделить на две категории: тип А, тип В [14,16].

Составляющие типа А оцениваются с применением статистических методов и выражаются в виде стандартной неопределенности. Для оценки стандартной неопределённости методики количественного химического анализа по типу А необходимо оценить показатели прецизионности и правильности. Так как эксперимент проводится в одной лаборатории, то необходимо оценить показатели промежуточной прецизионности и оценку лабораторного смещения. Расчеты осуществляли с использованием алгоритма, приведенного в нормативном документе РМГ 61-2010 [24].

Полученные данные проверяли на наличие «выбросов» с использованием «Критерия Граббса» по ГОСТ Р 8.736— 2011 [25]. Оценку влияния времени гидролиза на результаты анализа проводили путем однофакторного дисперсионного анализа, приняв за «Нуль-гипотезу» предположение об отсутствии статистически значимых различий между сериями измерений. По результатам проведенного статистического анализа данных было принято решение отвергнуть нулевую гипотезу, следовательно, время гидролиза оказывает влияние на результат анализа.

Для оценки показателей качества результатов анализа использовались общепринятые методы описательной статистики, такие как среднее, дисперсия, стандартное отклонение.

Оценку внутрилабораторного смещения осуществляли на образцах контроля с точно известной концентрацией контрольных растворов в 3 сериях по 3 параллельных определения в каждой.

Полученные данные подвергали в соответствии с алгоритмом РМГ-61 оценке на однородность единичных серий по G-критерию Кохрена (формула 2) [24].

$$G_m(\max) = \frac{(S^2 m, l)_{\max}}{\sum_l^L S^2 m, l} \quad (2)$$

Где $S^2 m, l$ — выборочная дисперсия результатов единичного анализа, полученных при анализе образца для оценивания под номером m в лаборатории l .

$(S^2 m, l)_{\max}$ — максимальная выборочная дисперсия результатов единичного анализа, полученных при анализе образцов для оценивания в лаборатории l .

$G_m(\max)$ — расчетное значение критерия Кохрена.

$G(\text{таб})$ — табличное значение критерия Кохрена.

Критерием оценки служит условие $G_m(\max) \leq G_{\text{табл}}$ при числе степеней свободы $n=2$, доверительной вероятности $P = 0,95$ и $f=5$ – число суммируемых дисперсий. При его выполнении дисперсии признаются однородными и могут быть использованы для дальнейшего анализа. Оценку значимости лабораторного смещения осуществляли по Критерию Стьюдента (формула 3) [17].

$$tm = \frac{|\theta m|}{\sqrt{\frac{S^2 m}{L} + \frac{\Delta \theta m^2}{3}}} \quad (3)$$

Где $S^2 m, l-1$ — дисперсия, характеризующая разброс средних арифметических результатов единичного анализа $X_{m, l}$ относительно среднего значения результатов анализа

$\Delta \theta m, l$ — погрешность аттестованного значения m – го образца.

θ_m - значение смещения, оцененное при анализе образца для оценивания под номером m .

Полученное расчетное значение сравнивали с табличным значением и при условии $tm < t_{\text{таб}}$ при выбранном уровне доверительной вероятности $P = 0,95$ смещение считали незначимым на фоне случайного разброса данных.

Неопределенность типа В оценивается способом отличным от статистического анализа повторных измерений, исходя из априорно известной информации о измеряемой величине (данные сертификата калибровки, данные от изготовителя, данные из предшествующих измерений) [10,13,18].

Доверительный интервал концентрации контрольных растворов для оценки лабораторного смещения рассчитывали с учетом каждого из влияющих факторов: неопределенность, связанная с измерением объема раствора с помощью дозаторов, степени чистоты вещества, массы навески. Суммарная неопределенность приготовленных растворов рассчитывали по типу В [15].

Рассчитанные значения промежуточной прецизионности и неопределенности, обусловленной смещением, использовали для расчёта суммарной неопределённости $U_{l,m}$ по следующей формуле (4):

$$U_{l,m} = \sqrt{u^2_{l,m} + U^2(\theta m)} \quad (4)$$

Где $U_{l,m}$ - расширенная неопределенность (коэффициент охвата $k = 2$, принятая для любого результата из совокупности результатов анализа, получаемых по методике анализа, предназначенной для использования в одной лаборатории, для содержания, соответствующего содержанию компонента в образце для оценивания под номером m ; $u_{l,m}$ – значение промежуточной прецизионности;

$U(\theta)$ - расширенная неопределенность значения смещения, принятая для любого из совокупности результатов анализа, получаемых по данной методике.

$$U(\theta m) = \sqrt{\frac{S^2_m}{L} + \frac{U^2_{o,m}}{3}} \quad (5)$$

S^2_m - выборочная дисперсия, характеризующая повторяемость результатов единичного анализа, полученных для содержания, соответствующего содержанию компонента в образце для оценивания под номером m ;

$U_{o,m}$ - неопределенность аттестованного значения образца для оценивания под номером m ;

Суммарная стандартная неопределенность, умноженная на коэффициент охвата $k=2$ называется расширенной неопределенностью или доверительным интервалом (формула 6):

$$U = kU_{n, m} \quad (6)$$

В таблицах 3, 4 и на рисунках 5, 6 представлено расчетное значение массовой доли аминокислот (среднее значение по серии) образца корма для стерилизованных кошек и образца корма для собак.

При анализе полученных данных был сделан вывод, что с увеличением времени гидролиза значение массовой доли аминокислот увеличивается. Так как было определено, что время гидролиза влияет на результат анализа, то для каждого показателя было рассчитано значение расширенной относительной неопределенности измерений массовой доли аминокислот в пробах корма через 3, 9, 15, 21 час гидролиза (таблица 5). Для сравнения в таблице приведены значения расширенной относительной неопределенности $U_{отн}$ методики.

Оценка показателей точности – расширенной относительной неопределенности при реализации методики показала результаты лучше предусмотренных методикой. Так как составляющая лабораторного смещения при расчёте неопределенности не изменялась, различие в значениях расширенной относительной неопределенности при изменении времени гидролиза обусловлено вкладом промежуточной прецизионности. Можно сделать вывод, что при увеличении времени гидролиза наблюдается увеличение сходимости результатов в сериях.

Таблица 3 – Массовая доля аминокислот в образце корма для стерилизованных кошек

Наименование аминокислоты	Массовая доля X, %			
	3 часа	9 часов	15 часов	21 час
Аргинин	2,07	2,78	2,79	2,91
Лизин	1,34	1,80	1,98	2,09
Тиразин	0,56	0,60	0,68	0,74

Фенилаланин	0,79	1,06	1,13	1,19
Гистидин	0,43	0,49	0,51	0,51
Лейцин, изолейцин (суммарно)	1,66	2,42	2,78	3,06
Метеонин	0,72	0,82	0,84	0,85
Валин	0,50	1,00	1,28	1,52
Пролин	2,92	3,72	3,77	3,98
Треонин	0,98	1,42	1,63	1,62
Серин	1,48	1,68	1,78	1,71
Аланин	2,65	3,02	3,11	3,25
Глицин	5,43	5,74	5,94	6,14
Аргинин	2,07	2,78	2,79	2,91

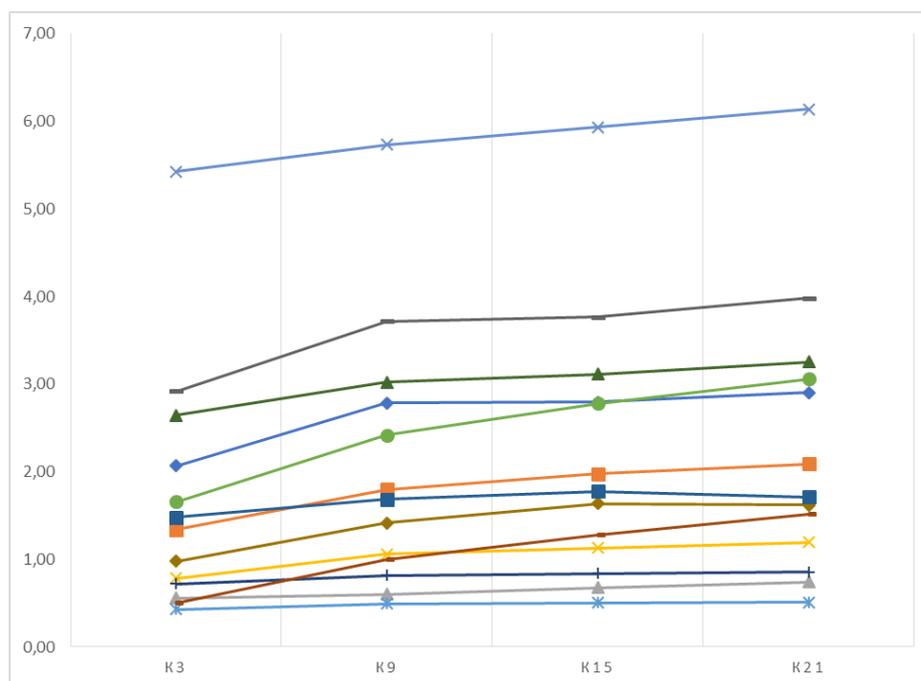


Рисунок 5 - Массовая доля аминокислот в образце корма для стерилизованных кошек, %

Таблица 4 - Массовая доля аминокислот в образце корма для собак

Наименование аминокислоты	Массовая доля X, %			
	3 часа	9 часов	15 часов	21 час
Аргинин	1,81	2,38	2,79	2,94
Лизин	1,11	1,70	1,76	1,84
Тиразин	0,45	0,57	0,62	0,63
Фенилаланин	0,69	0,93	0,96	0,98
Гистидин	0,38	0,48	0,48	0,48
Лейцин, изолейцин (суммарно)	1,44	2,21	2,58	2,69
Метеонин	0,62	0,72	0,77	0,79
Валин	0,46	0,89	1,05	1,25
Пролин	2,47	2,89	3,02	3,14
Треонин	1,22	1,36	1,57	1,71

Серин	1,29	1,37	1,71	1,72
Аланин	2,18	2,42	2,50	2,69
Глицин	4,19	4,36	4,59	4,90
Аргинин	1,81	2,38	2,79	2,94

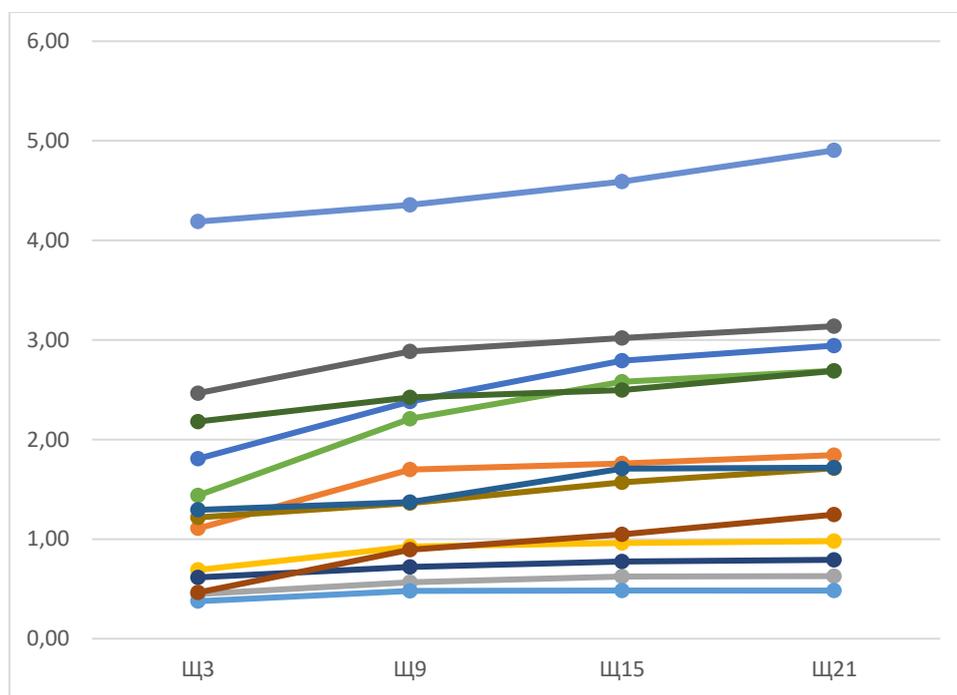


Рисунок 6 - Массовая доля аминокислот в образце корма для собак, %

Таблица 5 – значения расширенной относительной неопределенности

Наименование аминокислоты	Образец корма для стерилизованных кошек				U _{отн} методики, %
	U, %				
	3	9	15	21	
Лейцин, изолейцин (суммарно)	18	13	13	12	26
Треонин	24	21	17	17	40
Гистидин	50	46	43	42	50
Лизин	19	16	15	14	34
Валин	33	19	16	16	40
Серин	20	18	15	20	26
Аланин	15	13	12	12	26
Тиразин	41	31	29	27	30
Аргинин	15	13	12	12	40
Фенилаланин	27	21	19	19	30
Пролин	15	12	12	12	26
Метеонин	31	29	26	27	34
Глицин	11	12	11	11	34

Продолжение таблицы 5

Образец корма для собак					
Лейцин, изолейцин (суммарно)	16	18	12	12	26
Треонин	20	18	17	16	40
Гистидин	58	42	43	43	50
Лизин	21	15	16	16	34
Валин	34	20	25	17	40
Серин	18	20	17	16	26
Аланин	14	13	13	13	26
Тиразин	42	38	32	32	30
Аргинин	15	13	13	12	40
Фенилаланин	29	26	24	22	30
Пролин	13	12	13	12	26
Метеонин	35	31	28	28	34
Глицин	14	11	11	11	34

Заключение

В процессе увеличения времени гидролиза с 3 до 21 часа наблюдался рост суммарного содержания аминокислот в образцах корма для кошек (20,1% – 28,7%) и собак (23,4% – 32,6%). Это позволяет сделать вывод об увеличении степени извлечения аминокислот. При этом для большинства аминокислот с увеличением времени гидролиза наблюдается снижение значения стандартной относительной неопределённости. В условиях лаборатории удалось достичь более высоких значений показателя точности проведения анализа, чем предполагается методикой. В среднем показатель расширенной относительной стандартной неопределённости на 40 % меньше предусмотренного методикой.

При проведении анализа согласно методике [3] для всех аминокислот, кроме аргинина, пик которого не удаётся идентифицировать, наблюдается превышение предела повторяемости. Были оптимизированы условия проведения анализа, что позволило достичь приемлемого уровня повторяемости результатов.

Для повышения точности анализа следует рассмотреть возможность изменения условий кислотного гидролиза, а также возможность

использования других способов получения белкового гидролизата для проведения дальнейшего электрофоретического определения аминокислотного состава.

Литература

1. D'Onofrio F. et al. Determination of eleven total amino acids including cyst (e) ine by HPLC-DAD/FLD in complete dry and wet pet foods and their feed materials //Animal Feed Science and Technology. – 2023. – С. 115720.

2. Та Н. У. et al. Twenty years of amino acid determination using capillary electrophoresis: A review //Analytica chimica acta. – 2021. – Т. 1174. – С. 338233.

3. Урсу Р. В. и др. Количественный и качественный аминокислотный анализ альтернативных источников протеина в комбикормах //Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2022. – №. 4 (68). – С. 362-369.

4. Артамонов И. В. Сравнение образцов кормов по содержанию в них незаменимых аминокислот //АгроЗооТехника. – 2022. – Т. 5. – №. 1.

5. ГОСТ 32195-2013 (ISO 13903:2005) Межгосударственный стандарт корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот.

6. М 04-38-2009 Корма, комбикорма и сырье для их производства. Методика измерений массовой доли аминокислот методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель». ФР.1.31.2015.19761

7. Базык, А. Д. О некоторых методических особенностях определения аминокислот в кормах и кормовых добавках методом капиллярного электрофореза / А. Д. Базык, М. Г. Яковец // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: Сборник статей по материалам 78-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2022 год. В 3-х частях, Краснодар, 01–31 марта 2023 года / Отв. за выпуск А.Г. Коцаев. Том Часть 1. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2023. – С. 875-877.

8. Шмелева А. А., Лебедева Е. Л., Неудачина Л. К. Определение аминокислот методом капиллярного электрофореза // XXVIII Российская молодежная научная конференция «Проблемы теоретической и экспериментальной химии». — Екатеринбург, 2018. – Издательство Уральского университета, 2018. – №. 28. – С. 167-167.

9. ГОСТ Р 55569-2013 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение протеиногенных аминокислот методом капиллярного электрофореза.

10. ГОСТ 13496.0-2016. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб: Межгосударственный стандарт: издание официальное: утверждён и введён в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 октября 2016 г. N 1463-ст.: введён впервые: дата введения 2018-01-01 / Разработан открытым акционерным обществом "Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности" (ОАО "ВНИИКП").— Москва: Стандартинформ, 2016. – 16.

11. ГОСТ ISO 6498-2014. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка проб для испытаний: Межгосударственный стандарт: издание официальное: утверждён и введён в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 7 ноября 2014 г. N 1491-ст.: введён

впервые: дата введения 2016-01-01 / Подготовлен открытым акционерным обществом "Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности" (ОАО "ВНИИКП"). – Москва: Стандартинформ, 2016. – 16.

12. Максимюк Н. Н., Марьяновская Ю. В. О преимуществах ферментативного способа получения белковых гидролизатов //Фундаментальные исследования. – 2009. – Т. 1. – С. 34-35.

13. Hartung S. et al. Performance of capillary electrophoresis instruments–State of the art and outlook //TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2023. – С. 117056.

14. Frazier R. A., Ames J. M., Nursten H. E. The development and application of capillary electrophoresis methods for food analysis //ELECTROPHORESIS: An International Journal. – 1999. – Т. 20. – №. 15-16. – С. 3156-3180.

15. Руководство Еврахим/Ситак. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. М.: Стандартинформ, 2011.- 36 с.

16. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений: Государственный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утверждён и введён в действие Постановлением Госстандарта России от 23 апреля 2002 года № 161-ст.: введён впервые: дата введения 2002-11-01 / Разработан Федеральным государственным унитарным «Всероссийский исследовательский институт метрологической службы» (ВНИИСтандарт). – Москва: Стандартинформ, 2006. – 24.

17. ГОСТ Р ИСО 5725-3-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 3. Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений: издание официальное: утверждён и введён в действие Постановлением Госстандарта России от 23 апреля 2002 года № 161-ст.: введён впервые: дата введения 2002-11-01 / Разработан Федеральным государственным унитарным "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы" Госстандарта России (ВНИИМС). – Москва: Стандартинформ, 2006. – 24.

18. ГОСТ 34100.3—2017. Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения: издание официальное: введён в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии 1 сентября 2018 года № 1065-ст.: введён впервые: дата введения 2018-09-01 / Подготовлен Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 125 «Статистические методы в управлении качеством продукции». – Москва: Стандартинформ, 2018. –116.

19. Конопелько Л. А., Кадиса Р. Л. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях //ВНИИМ ИМ. ДИ Менделеева. – 2002.

20. Кадис Р. Л. Метрологический и статистический смысл понятия “точность” в химическом анализе. ИСО 5725, показатели точности и неопределенность измерений //Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2005. – №. 12. – С. 53-59.

21. Захаров И. П. Неопределенность измерений для чайников и начальников: учебное пособие //Санкт-Петербург: Политехника-Сервис. – 2014.

22. РМГ 29-2013. Метрология. Основные термины и определения: введён в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии 5 декабря 2013 года № 2166-ст.: взамен РМГ 29-99: дата введения 2015-01-01/Разработан Федеральным государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им.Д.И.Менделеева" (ФГУП "ВНИИМ им.Д.И.Менделеева"). – Москва: Стандартинформ, 2014. – 60.

23. Муравская Н. П., Писаренко Е. М., Маленков И. В. Оценка неопределенности приготовления градуировочных и поверочных растворов ионов металлов и аденозин-5'-трифосфата //Измерительная техника. – 2008. – №. 11. – С. 69-72.
24. Алексеев А. В., Якимович П. В. Оценка бюджетов неопределенности при анализе никеля методами ИСП-МС и масс-спектрометрии высокого разрешения с тлеющим разрядом //Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2022. – Т. 63. – №. 4. – С. 283-293.
25. Савкова Е. Н. Систематизация подходов к причинно-следственному моделированию неопределенности при отборе проб и пробоподготовке. – 2019.
26. РМГ 61-2010. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки: введён в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии 1 сентября 2012 года № 1064-ст.: взамен РМГ 61-2003: дата введения 2012-09-01/Разработан Федеральным государственным унитарным предприятием "Уральский научно-исследовательский институт метрологии" (ФГУП "УНИИМ"). – Москва: Стандартинформ, 2013. – 60.
27. ГОСТ Р 8.736-2011. Государственная система обеспечения единства измерений. Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения: издание официальное: утверждён и введён в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 г. N 1045-ст: введён впервые: дата введения 2013-01-01 / Разработан Федеральным государственным унитарным предприятием "Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им.Д.И.Менделеева" (ФГУП "ВНИИМ им.Д.И.Менделеева").– Москва: Стандартинформ, 2013. – 24.

References

1. D'Onofrio F. et al. Determination of eleven total amino acids including cyst (e) ine by HPLC-DAD/FLD in complete dry and wet pet foods and their feed materials //Animal Feed Science and Technology. – 2023. – S. 115720.
2. Та Н. Y. et al. Twenty years of amino acid determination using capillary electrophoresis: A review //Analytica chimica acta. – 2021. – Т. 1174. – S. 338233.
3. Ursu R. V. i dr. Kolichestvennyj i kachestvennyj aminokislotnyj analiz al'ternativnyh istochnikov proteina v kombikormah //Izvestija Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie. – 2022. – №. 4 (68). – S. 362-369.
4. Artamonov I. V. Sravnenie obrazcov kormov po sodержaniju v nih nezamenimyh aminokislot //AgroZooTehnika. – 2022. – Т. 5. – №. 1.
5. GOST 32195-2013 (ISO 13903:2005) Mezhhgosudarstvennyj standart korma, kombikorma. Metod opredelenija sodержanija aminokislot.
6. М 04-38-2009 Korma, kombikorma i syr'e dlja ih proizvodstva. Metodika izmerenij massovoj doli aminokislot metodom kapilljarnogo jelektroforeza s ispol'zovaniem sistemy kapilljarnogo jelektroforeza «Kapel». FR.1.31.2015.19761
7. Bazyk, A. D. O nekotoryh metodicheskikh osobennostjah opredelenija aminokislot v kormah i kormovyh dobavkah metodom kapilljarnogo jelektroforeza / A. D. Bazyk, M. G. Jakovec // Nauchnoe obespechenie agropromyshlennogo kompleksa: Sbornik statej po materialam 78-j nauchno-praktičeskoj konferencii studentov po itogam NIR za 2022 god. V 3-h chastjah, Krasnodar, 01–31 marta 2023 goda / Otv. za vypusk A.G. Koshhaev. Tom

Chast' 1. – Krasnodar: Kubanskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet imeni I.T. Trubilina, 2023. – S. 875-877.

8. Shmeleva A. A., Lebedeva E. L., Neudachina L. K. Opredelenie aminokislot metodom kapilljarnogo jelektroforeza // XXVIII Rossijskaja molodezhnaja nauchnaja konferencija «Problemy teoreticheskoy i jeksperimental'noj himii». — Ekaterinburg, 2018. – Izdatel'stvo Ural'skogo universiteta, 2018. – №. 28. – S. 167-167.

9. GOST R 55569-2013 Korma, kombikorma, kombikormovoe syr'e. Opredelenie proteinogenykh aminokislot metodom kapilljarnogo jelektroforeza.

10. GOST 13496.0-2016. Korma, kombikorma, kombikormovoe syr'e. Metody otbora prob: Mezhhgosudarstvennyj standart: izdanie oficial'noe: utverzhdjon i vvedjon v dejstvie Prikazom Federal'nogo agentstva po tehničeskomu regulirovaniju i metrologii ot 20 oktjabrja 2016 g. N 1463-st.: vvedjon v pervye: data vvedenija 2018-01-01 / Razrabotan otkrytym akcionernym obshhestvom "Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut kombikormovoj promyshlennosti" (OAO "VNIIPK"). – Moskva: Standartinform, 2016. – 16.

11. GOST ISO 6498-2014. Korma, kombikorma, kombikormovoe syr'e. Podgotovka prob dlja ispytanij: Mezhhgosudarstvennyj standart: izdanie oficial'noe: utverzhdjon i vvedjon v dejstvie Prikazom Federal'nogo agentstva po tehničeskomu regulirovaniju i metrologii ot 7 nojabrja 2014 g. N 1491-st.: vvedjon v pervye: data vvedenija 2016-01-01 / Podgotovlen otkrytym akcionernym obshhestvom "Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut kombikormovoj promyshlennosti" (OAO "VNIIPK"). – Moskva: Standartinform, 2016. – 16.

12. Maksimjuk N. N., Mar'janovskaja Ju. V. O preimushhestvah fermentativnogo sposoba poluchenija belkovykh gidrolizatov // Fundamental'nye issledovaniya. – 2009. – T. 1. – S. 34-35.

13. Hartung S. et al. Performance of capillary electrophoresis instruments—State of the art and outlook // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2023. – S. 117056.

14. Frazier R. A., Ames J. M., Nursten H. E. The development and application of capillary electrophoresis methods for food analysis // ELECTROPHORESIS: An International Journal. – 1999. – T. 20. – №. 15-16. – S. 3156-3180.

15. Rukovodstvo Evrahim/Sitak. Kolichestvennoe opisanie neopredelennosti v analiticheskikh izmerenijah. Obshhie trebovanija k kompetentnosti ispytatel'nyh i kalibrovochnykh laboratorij. M.: Standartinform, 2011.- 36 s.

16. GOST R ISO 5725-1-2002. Točnost' (pravil'nost' i precizionnost') metodov i rezul'tatov izmerenij: Gosudarstvennyj standart Rossijskoj Federacii: izdanie oficial'noe: utverzhdjon i vvedjon v dejstvie Postanovleniem Gosstandarta Rossii ot 23 aprelja 2002 goda № 161-st.: vvedjon v pervye: data vvedenija 2002-11-01 / Razrabotan Federal'nym gosudarstvennym unitarnym «Vserossijskij issledovatel'skij institut metrologičeskoy sluzhby» (VNIISstandart). – Moskva: Standartinform, 2006. – 24.

17. GOST R ISO 5725-3-2002. Točnost' (pravil'nost' i precizionnost') metodov i rezul'tatov izmerenij. Chast' 3. Promezhutočnye pokazateli precizionnosti standartnogo metoda izmerenij: izdanie oficial'noe: utverzhdjon i vvedjon v dejstvie Postanovleniem Gosstandarta Rossii ot 23 aprelja 2002 goda № 161-st.: vvedjon v pervye: data vvedenija 2002-11-01 / Razrabotan Federal'nym gosudarstvennym unitarnym "Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut metrologičeskoy sluzhby" Gosstandarta Rossii (VNIIMS). – Moskva: Standartinform, 2006. – 24.

18. GOST 34100.3—2017. Neopredelennost' izmerenija. Chast' 3. Rukovodstvo po vyrazheniju neopredelennosti izmerenija: izdanie oficial'noe: vvedjon v dejstvie Prikazom Federal'nogo agentstva po tehničeskomu regulirovaniju i metrologii 1 sentjabrja 2018 goda № 1065-st.: vvedjon v pervye: data vvedenija 2018-09-01 / Podgotovlen

Mezhhgosudarstvennym tehničeskim komitetom po standartizacii MTK 125 «Statističeskie metody v upravlenii kachestvom produkcii». – Moskva: Standartinform, 2018. – 116.

19. Konopel'ko L. A., Kadisa R. L. Kolichestvennoe opisanie neopredelennosti v analitičeskikh izmerenijah //VNIIM im. D.I.Mendeleeva. – 2002.

20. Kadis R. L. Metrologičeskij i statističeskij smysl ponjatija “točnost” v himičeskom analize. ISO 5725, pokazateli točnosti i neopredelennost' izmerenij //Zavodskaja laboratorija. Diagnostika materialov. – 2005. – №. 12. – S. 53-59.

21. Zaharov I. P. Neopredelennost' izmerenij dlja čajnikov i načal'nikov: učebnoe posobie //Sankt-Peterburg: Politehnika-Servis. – 2014.

22. RMG 29-2013. Metrologija. Osnovnye terminy i opredelenija: vvedjon v dejstvie Prikazom Federal'nogo agentstva po tehničeskomu regulirovaniju i metrologii 5 dekabrja 2013 goda № 2166-st.: vzamen RMG 29-99: data vvedenija 2015-01-01/Razrabotan Federal'nym gosudarstvennym unitarnym predprijatiem "Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut metrologii im.D.I.Mendeleeva" (FGUP "VNIIM im.D.I.Mendeleeva"). – Moskva: Standartinform, 2014. – 60.

23. Muravskaja N. P., Pisarenko E. M., Malenkov I. V. Ocenka neopredelennosti prigotovlenija graduirovočnyh i poveročnyh rastvorov ionov metallov i adenzin-5'-trifosfata //Izmeritel'naja tehnika. – 2008. – №. 11. – S. 69-72.

24. Alekseev A. V., Jakimovich P. V. Ocenka bjudžetov neopredelennosti pri analize nikelja metodami ISP-MS i mass-spektrometrii vysokogo razrešenija s tlejushhim razrjadom //Vestnik Moskovskogo universiteta. Serija 2. Himija. – 2022. – T. 63. – №. 4. – S. 283-293.

25. Savkova E. N. Sistematizacija podhodov k prichinno-sledstvennomu modelirovaniju neopredelennosti pri otbore prob i probopodgotovke. – 2019.

26. RMG 61-2010. Pokazateli točnosti, pravil'nosti, precizionnosti metodik kolichestvennogo himičeskogo analiza. Metody ocenki: vvedjon v dejstvie Prikazom Federal'nogo agentstva po tehničeskomu regulirovaniju i metrologii 1 sentjabrja 2012 goda № 1064-st.: vzamen RMG 61-2003: data vvedenija 2012-09-01/Razrabotan Federal'nym gosudarstvennym unitarnym predprijatiem "Ural'skij nauchno-issledovatel'skij institut metrologii" (FGUP "UNIIM"). – Moskva: Standartinform, 2013. – 60.

27. GOST R 8.736-2011. Gosudarstvennaja sistema obespečenija edinstva izmerenij. Izmerenija prjamyje mnogokratnye. Metody obrabotki rezul'tatov izmerenij. Osnovnye položhenija: izdanie oficial'noe: utverždjon i vvedjon v dejstvie Prikazom Federal'nogo agentstva po tehničeskomu regulirovaniju i metrologii ot 13 dekabrja 2011 g. N 1045-st: vvedjon v pervye: data vvedenija 2013-01-01 / Razrabotan Federal'nym gosudarstvennym unitarnym predprijatiem "Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut metrologii im.D.I.Mendeleeva" (FGUP "VNIIM im.D.I.Mendeleeva"). – Moskva: Standartinform, 2013. – 24.