

ТЕХНИЧЕСКИЕ
УСЛОВИЯ

ISO/TS
15495

IDF/RM
230

Первое издание
2010-11-01

**Молоко, молочные продукты и смеси
для детей раннего возраста.
Руководство по количественному
определению меламина и циануровой
кислоты методом ЖХ-МС/МС (LC-
MS/MS)**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

*Milk, milk products and infant formulae – Guidelines for the quantitative
determination of melamine and cyanuric acid by LC-MS/MS*

ISO/TS 15495:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9780e530-ff36-4444-80a4-449d025faccf/iso-ts-15495-2010>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочные номера
ISO/TS 15495:2010(R)
IDF/RM 230:2010(R)

© ISO и IDF 2010

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на установку интегрированных шрифтов в компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe - торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO/TS 15495:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9780e530-ff36-4444-80a4-449d025faccf/iso-ts-15495-2010>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO и IDF 2010

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без разрешения в письменной форме от ISO или IDF, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

International Dairy Federation
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Brussels
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Предисловие	v
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	1
4 Сущность метода	2
5 Отбор проб	2
6 Подготовка пробы для анализа	2
7 Проведение анализа	3
7.1 Анализ LC-MS/MS . Хроматография	3
7.2 Анализ LC-MS/MS. Масс-спектрометрия	3
8 Критерии рабочих характеристик	3
8.1 Общие положения	3
8.2 Требуемая минимальная чувствительность	4
8.3 Правильность и выход аналита	4
8.4 Повторяемость	4
8.5 Внутрिलाбораторная воспроизводимость	4
9 Протокол испытания	4
Приложение А (информативное) Пример А — Коровье молоко и молочные смеси для детей раннего возраста. Одновременное количественное определение меламина и циануровой кислоты методом жидкостной хроматографии с ионизацией электрораспылением и тандемной масс-спектрометрии	5
Приложение В (информативное) Пример В — Количественный анализ меламина и циануровой кислоты в сухой молочной смеси для детей раннего возраста и коровьем молоке методом жидкостной хроматографии с использованием линейной масс-спектрометрии с ионной ловушкой	21
Библиография	33

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO тесно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, приведенными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Для опубликования их в качестве международного стандарта требуется одобрение не менее 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

При других обстоятельствах, особенно при наличии настоятельных требований рынка, технический комитет может решить опубликовать другие типы нормативных документов:

- общедоступные технические условия ISO (ISO/PAS), представляющие собой соглашение между техническими экспертами рабочей группы ISO, и публикуемые при условии получения одобрения более чем 50% голосов членов головного технического комитета, принимавших участие в голосовании;
- технические условия ISO (ISO/TS), представляющие собой соглашение между членами технического комитета и публикуемые при условии утверждения 2/3 голосов членов комитета, принимавших участие в голосовании.

Документы ISO/PAS или ISO/TS пересматриваются через три года с целью принятия решения либо о продлении их действия на следующие три года, либо о пересмотре и публикации в качестве международного стандарта, либо прекращении действия. Если принимается решение о продлении действия ISO/PAS и ISO/TS, они должны быть пересмотрены через следующие три года, когда они должны быть либо преобразованы в международный стандарт, либо отменены.

Следует учитывать возможность того, что некоторые элементы настоящего документа могут быть предметом патентного права. ISO не несет ответственности за идентификацию любого из таких патентных прав.

ISO/TS 15495|IDF/RM 230 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международная молочная федерация (IDF). Документ публикуется совместно ISO и IDF.

Предисловие

Международная Молочная Федерация (IDF) является некоммерческой организацией, представляющей всемирное молочное животноводство. Членами IDF являются Национальные комитеты каждой страны-члена, а также региональные ассоциации по молочному животноводству, которые имеют подписанное официальное соглашение о совместной деятельности с IDF. Каждый член IDF имеет право быть представленным в Постоянных комитетах IDF, осуществляющих техническую работу. IDF сотрудничает с ISO по вопросам разработки стандартных методов анализа и отбора проб молока и молочных продуктов.

Основная задача Постоянных комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые Постоянными комитетами, рассылаются Национальным комитетам для утверждения до опубликования в качестве международных стандартов. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 50 % Национальных комитетов IDF, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. IDF не должен нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO/TS 15495 | IDF/RM 230 был подготовлен Международной молочной федерацией (IDF) и Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*. Публикуется совместно IDF и ISO.

Вся работа была выполнена совместной рабочей группой по *Определению меламина* Постоянного комитета по *Методам анализа добавок и примесей* под руководством лидеров проекта, Доктора С.Е.Холройда (S.E.Holroyd) (Новая Зеландия) и Доктора Т.Делатуа (T. Delatour) (CH).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9780e530-ff36-4444-80a4-449d025faccf/iso-ts-15495-2010>

Молоко, молочные продукты и смеси для детей раннего возраста. Руководство по количественному определению меламина и циануровой кислоты методом ЖХ-МС/МС (LC-MS/MS)

1 Область применения

В настоящих Технических условиях даются рекомендации по количественному определению меламина и циануровой кислоты в молоке, продукции на основе порошкового молока и молочных смесей для грудных детей методом жидкостной хроматографии с ионизацией электрораспылением – тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС = LC-MS/MS).

ПРИМЕЧАНИЕ Примеры методов LC-MS/MS приведены в Приложениях А и В.

2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные документы обязательны для применения данного документа. Для датированных ссылок применяется только указанное издание. Для недатированных ссылок применяется самое последнее издание указанного документа (включая все изменения).

ISO 3534 (все части), *Статистика. Словарь и обозначения*

ISO 5725-1, *Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерения. Часть 1. Общие принципы и определения*

3 Термины и определения

Применительно к данному документу используются термины и определения, приведенные в ISO 3534, ISO 5725-1, а также следующие.

3.1

сСодержание меламина melamine content

массовая доля вещества, определенная с помощью методов, установленных в данных Технических условиях

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание меламина выражают в миллиграммах на килограмм продукта.

3.2

содержание циануровой кислоты cyanuric acid content

массовая доля вещества, определенная с помощью методов, установленных в данных Технических условиях

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание циануровой кислоты выражают в миллиграммах на килограмм продукта.

3.3 максимальный предел maximum limit ML

Максимальное содержание меламина или циануровой кислоты, допускаемое или приемлемое в молоке, продукции из сухого молока или молочных смесей для детей раннего возраста.

ПРИМЕЧАНИЕ ML может быть пределом, установленным на национальном уровне, международном уровне или на определенном уровне решения таких проблем.

4 Сущность метода

Пробу приводят в гомогенное состояние или, в другом варианте разбавляют в случае порошкообразных проб. К пробе для анализа добавляют подходящий растворитель, чтобы осадить белки из матрицы и экстрагировать меламина и циануровую кислоту. После центрифугирования, аликвотное количество надосадочной жидкости анализируют методом LC-MS/MS.

Применительно к данным Техническим условиям LC-MS/MS обозначает любой метод, соединяющий высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC) или сверхпроизводительную жидкостную хроматографию (UPLC), либо с обнаружением на спектрометре с тремя квадрупольными линзами, либо с обнаружением на масс-спектрометре с ионной ловушкой. Хроматографическое разделение основано на жидкостной хроматографии с гидрофильным взаимодействием (HILIC), чтобы обеспечить хорошее разделение меламина и циануровой кислоты. Ионизация вещества сопровождается ионизацией электрораспылением (ESI), а детекторы функционируют в выбранном режиме мониторинга реакции (SRM).

ПРИМЕЧАНИЕ Можно использовать другие достаточно эффективные методы ионизации. Также можно использовать другие анализаторы массы, постольку поскольку они согласуются с критериями эффективности (идентификационные точки) в документе 2002/657/EC (Ссылка[8]).

Количественное определение меламина и циануровой кислоты основано на разбавлении с использованием внутренних стандартов стабильного изотопа для обоих определяемых веществ (аналитов).

5 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, установленного в данных Технических условиях. Рекомендуемый метод пробоотбора приведен в ISO 707 | IDF 50^[1].

Важно, чтобы лаборатория получила действительно репрезентативную пробу, без повреждений и изменений в результате транспортирования или хранения.

6 Подготовка пробы для анализа

Масса пробы для анализа или дополнительного разбавления должна быть представительной для исследуемого продукта и позволять эффективную экстракцию определяемых веществ (аналитов).

Стандарты с мечеными изотопами следует вводить непосредственно в сухую или влажную пробу на первом этапе анализа.

Концентрация добавленных внутренних стандартов должна быть величиной такого же порядка, как концентрация меламина и циануровой кислоты. Экстракцию можно выполнить в объеме растворителя не менее 5 мл на грамм материала пробы, чтобы получить конечную массовую долю органического растворителя в экстракционной смеси не менее 70 %. Экстракцию следует вести в течение не менее 5 мин либо при энергичном встряхивании, либо с помощью ультразвука в сочетании с перемешиванием. Затем пробу центрифугируют в определенных условиях и фильтруют через

шприцевой фильтр.

Можно применять другие способы при условии соответствия критериям эффективности и соответствия валидации с требованиям, установленным в данных Технических условиях.

7 Проведение анализа

7.1 Анализ LC-MS/MS. Хроматография

Выполняют разделение с помощью жидкостной хроматографии, используя колонку, предназначенную для этой цели.

Минимальное приемлемое время удерживания для меламина и циануровой кислоты должно вдвое превосходить время удерживания, соответствующее свободному объему колонки. Время удерживания в экстракте пробы должно соответствовать времени удерживания калибровочного стандарта в пределах установленного интервала времени удерживания.

Отношение времени удерживания определяемого вещества (аналита) к времени удерживания внутреннего стандарта должно соответствовать отношению времени удерживания калибровочных стандартов к времени удерживания внутреннего стандарта в пределах $\pm 2,5$ %.

7.2 Анализ LC-MS/MS. Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрическое определение меламина и циануровой кислоты должно осуществляться предпочтительно посредством применения прибора LC-MS/MS с тремя квадрупольными линзами.

Количественное определение и идентификация должны достигаться в режиме SRM. При использовании прибора с тремя квадрупольными линзами для каждого соединения, должно использоваться не менее двух MRM-переходов массы для определения аналита, тогда как не менее одного перехода должно использоваться для внутреннего стандарта. Также рекомендуется, чтобы для внутреннего стандарта наблюдалось два MRM-перехода.

Наиболее подходящий переход (наиболее интенсивный) должен использоваться для количественного определения (квантификатор), а второй для подтверждения (квалификатор). Необходимо проверить отношение интенсивности квалификатора к интенсивности квантификатора (Rq/Q) и применить критерии допусков в зависимости от значения Rq/Q (Таблица 1).

Таблица 1 — Максимальный допустимый относительный допуск для отношения интенсивности квалификатора к интенсивности квантификатора (Rq/Q)

Rq/Q (% квантификатора)	Допуск (отн. в %)
>50	± 20
>20 до 50	± 25
>10 до 20	± 30
≤ 10	± 50

8 Критерии рабочих характеристик

8.1 Общие положения

Каждой лаборатории следует подтвердить вводимый метод, чтобы продемонстрировать соответствие поставленным целям. Для валидации рекомендуется процедура, установленная в Решении Комиссии ЕС 2002/657/ЕС (Ссылка [8]). Максимальные и минимальный пределы рабочих характеристик, взятых

из этой процедуры, определены в 8.2 и 8.5.

8.2 Требуемая минимальная чувствительность

Требуемый предел квантификации (LoQ) должен быть не менее чем в 10 раз ниже максимального предела (ML), чтобы обеспечить надежный диапазон при ML.

8.3 Правильность и выход анализа

Следуя данному руководству, правильность и выход анализа обычно попадают в интервал между 95 % и 105 %. Для приемки аналитических методов правильность и выход должны быть в интервале между 80 % и 110 %.

8.4 Повторяемость

Коэффициент вариаций повторяемости обычно составляет от 3 % до 6 %, с пределом <15 %.

8.5 Внутрिलाбораторная воспроизводимость

Коэффициент вариаций внутрिलाбораторной воспроизводимости обычно составляет от 5 % до 10 %, с пределом <15 %.

9 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать, как минимум, следующую информацию:

- a) все сведения, необходимые для полной идентификации пробы;
- b) использованный метод отбора проб, если он известен;
- c) использованный метод испытания, со ссылкой на данные Технические условия (ISO/TS 15495 | IDF/RM 230:2010);
- d) все детали операций, не установленных в данных Технических условиях или считающихся необязательными, наряду с описанием всех событий, которые могли повлиять на результат(ы) испытания;
- e) полученный(е) результат(ы) испытания;
- f) если проверялась повторяемость (сходимость), то полученный конечный результат.

Приложение А (информативное)

Пример А. Коровье молоко и молочные смеси для детей раннего возраста. Одновременное количественное определение меламина и циануровой кислоты методом жидкостной хроматографии с ионизацией электрораспылением и тандемной масс-спектрометрии

А.1 Область применения

В данном приложении установлен подтвержденный внутри лаборатории метод количественного определения меламина и циануровой кислоты в коровьем молоке (СМ) и сухих молочных смесях для детей раннего возраста (PIF) методом жидкостной хроматографии с ионизацией электрораспылением и тандемной масс-спектрометрии (LC-MS/MS), используя режим мониторинга выбранных реакций.

Положительная идентификация меламина и циануровой кислоты в пробе проводится согласно критериям подтверждения, определенным в Решении Комиссии ЕС 2002/657/ЕС (Ссылка[8]).

Количественное определение осуществляют с помощью изотопного разбавления, используя меченный ($^{13}\text{C}_3$, $^{15}\text{N}_3$)-меламин и меченную ($^{13}\text{C}_3$, $^{15}\text{N}_3$)-циануровую кислоту в качестве внутренних стандартов (IS). Дополнительные технические подробности можно найти в данных валидации и результатах квалификационных испытаний, см. Ссылку [10].

Метод позволяет осуществить точное количественное определение при следующих сообщаемых пределах, и выше:

- a) содержание меламина и циануровой кислоты в СМ при концентрации от 0,05 мг/кг до 0,10 мг/кг соответственно.
- b) содержание меламина и циануровой кислоты в PIF при концентрации от 0,05 мг/кг до 0,10 мг/кг, соответственно.
- c) содержание меламина и циануровой кислоты в PIF при концентрации 1,00 мг/кг.

А.2 Термины и определения

См. Раздел 3.

А.3 Сущность метода

Методика анализа включает разбавление пробы в водном растворе ацетонитрила, что приводит к осаждению. После центрифугирования надосадочную жидкость анализируют методом LC-MS/MS в режиме SRM, работая как в режиме ионизации с получением положительных ионов, так и в режиме ионизации с получением отрицательных ионов. Переключение полярности выполняется в рамках одного опыта.

А.4 Реактивы

Используют реактивы только признанной аналитической чистоты, если нет иных указаний, и дистиллированную или деминерализованную воду или воду равноценной чистоты.

ПРИМЕЧАНИЕ Номера по CAS приведены для каждого реактива.

Перед использованием химических веществ см. Соответствующие справочники или перечни безопасности, утвержденные местными властями.

A.4.1 Вода, для хроматографического анализа (CAS No. 7732-18-5).

A.4.2 Ацетонитрил (CH_3CN), градиентной чистоты для хроматографического анализа (CAS No. 75-05-8).

A.4.3 Ацетат аммония ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$), GR для анализа (CAS No. 631-61-8).

A.4.4 Циануровая кислота (CNOH)₃, массовая доля >98 % (CAS No. 108-80-5).

A.4.4.1 Исходный стандартный раствор циануровой кислоты, концентрацией 0,25 мг циануровой кислоты на миллилитр.

Берут навеску с точностью до 0,1 мг, 63,8 мг циануровой кислоты (A.4.4) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 250 мл (A.5.12), сделав соответствующую поправку на примеси согласно результатам анализа, приведенным в сертификате. Растворяют и доводят до метки водой (A.4.1). Примерно в течение 15 мин воздействуют ультразвуком до полного растворения.

Хранят исходный стандартный раствор циануровой кислоты при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий исходный стандартный раствор готовят еженедельно.

A.4.4.2 Рабочий раствор циануровой кислоты I, соответствующий 20 мкг циануровой кислоты на миллилитр.

Пипеткой добавляют 4 мл исходного стандартного раствора циануровой кислоты (A.4.4.1) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 ml (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Рабочий раствор I циануровой кислоты хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий рабочий раствор I готовят еженедельно.

A.4.4.3 Рабочий раствор циануровой кислоты II, соответствующий 2 мкг циануровой кислоты на миллилитр.

Пипеткой добавляют 1 мл рабочего раствора циануровой кислоты I (A.4.4.2) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 10 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Рабочий раствор II циануровой кислоты хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий рабочий раствор II готовят еженедельно.

A.4.4.4 Рабочий раствор циануровой кислоты III, соответствующий 200 нг циануровой кислоты на миллилитр.

Пипеткой добавляют 0,5 мл рабочего раствора циануровой кислоты I (A.4.4.2) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Рабочий раствор III циануровой кислоты хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий рабочий раствор III готовят еженедельно.

A.4.5 Меченая циануровая кислота ($^{13}\text{C}_3\text{H}_3^{15}\text{N}_3\text{O}_3$), изотопная чистота: $^{13}\text{C}_3 = 99\%$; кольцо $^{15}\text{N}_3 > 98\%$; химическая чистота 90 % массовая доля, 100 мкг/мл в воде –1,2 мл.

A.4.5.1 Исходный стандартный раствор меченой циануровой кислоты, соответствующий концентрации 100 мкг меченой циануровой кислоты на миллилитр.

Готовый к применению исходный стандартный раствор меченой циануровой кислоты имеется в продаже. Хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте.

Необходимо использовать IS (внутренний стандарт) одной и той же партии для приготовления стандартных градуировочных растворов в A.6.2 и введения в экстракты в соответствии с методикой экстракции, описанной в A.9.1.

A.4.5.2 Рабочий раствор меченой циануровой кислоты I, соответствующий концентрации 20 мкг меченой циануровой кислоты на миллилитр.

Пипеткой добавляют 1 мл исходного стандартного раствора меченой циануровой кислоты (A.4.5.1) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 5 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Рабочий раствор меченой циануровой кислоты I хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте.

A.4.5.3 Рабочий раствор меченой циануровой кислоты II, соответствующий концентрации 2 мкг меченой циануровой кислоты на миллилитр.

Пипеткой добавляют 0,5 мл рабочего раствора меченой циануровой кислоты I (A.4.5.2) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 5 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Рабочий раствор меченой циануровой кислоты II хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте.

A.4.5.4 Рабочий раствор меченой циануровой кислоты III, соответствующий концентрации 200 нг меченой циануровой кислоты на миллилитр.

Пипеткой добавляют 0,5 мл рабочего раствора меченой циануровой кислоты I (A.4.5.2) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Рабочий раствор меченой циануровой кислоты III хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте.

A.4.6 Меламин ($C_3H_6N_6$), >99 % по массе (CAS No. 108-78-1).

A.4.6.1 Исходный стандартный раствор меламина, соответствующий концентрации 0,25 мг меламина на миллилитр.

Взвешивают с точностью до 0,1 мг, 62,5 мг меламина (A.4.6) и помещают в мерную колбу с одной меткой вместимостью 250 мл (A.5.12). Растворяют и доводят до метки водой (A.4.1). Обрабатывают ультразвуком в течение не менее 15 мин до полного растворения. Хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий исходный раствор готовят еженедельно.

A.4.6.2 Рабочий раствор меламина I, соответствующий концентрации 20 мкг меламина на миллилитр.

Пипеткой добавляют 4 мл исходного стандартного раствора меламина (A.4.6.1) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Хранят рабочий раствор меламина I при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий рабочий раствор меламина I готовят еженедельно.

A.4.6.3 Рабочий раствор меламина II, соответствующий концентрации 2 мкг меламина на миллилитр.

Пипеткой добавляют 1 мл рабочего раствора меламина I (A.4.6.2) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 10 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Хранят рабочий раствор меламина II при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий рабочий раствор меламина II готовят еженедельно.

A.4.6.4 Рабочий раствор меламина III, соответствующий концентрации 200 нг меламина на миллилитр.

Пипеткой добавляют 0,5 мл рабочего раствора меламина I (A.4.6.2) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 мл (A.5.12). Доводят до метки водой (A.4.1) и перемешивают. Хранят рабочий раствор меламина III при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежий рабочий раствор меламина III готовят еженедельно.