**Стандартная операционная процедура**

**«Определение морфологии гранул крахмала»**

Местонахождение: ИЦиГ СО РАН

Пересмотр через: 1 год

|  |  |
| --- | --- |
| ФИЦ ИЦиГ СО РАН | |
| СОП № 14 от 24.07.2017 | Стандартная операционная процедура «Определение морфологии гранул крахмала» |
| Цель СОП: | Упорядочить процесс анализа свойств крахмала |
| Разработчик: | Хлесткин В.К., Эрст Т.В. |
| Рабочее место: | Лаборатории контроля качества продукции или сырья, аналитические |
| Утверждено: | ФАНО России |
| Разработано на основании: | ИСО15189:2012 - 5.5.3  Практическое руководство по оценке морфологии гранул картофельного крахмала методом микроскопирования (Хлесткин В.К., Эрст Т.В.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(6):728-734. DOI 10.18699/VJ17.290 |

Таблица – СОП «Определение морфологии гранул крахмала»

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Визуализация | Описание операции | Время выполнения | Используемые материалы и приборы |
| 1. |  | Шпателем измельчить 5 мг крахмала, поместить в пробирку типа Eppendorf (1,5 мл). | 1 мин | Весы аналитические  Шпатель  Пробирка Eppendorf 1,5 мл или аналогичная |
| 2. |  | Добавить 1 мл дистиллированной воды. | 30 с | Пипетка-дозатор (100-1000 мкл).  Вода дистиллированная. |
| 3. |  | К полученной смеси добавить 50 мкл раствора иода в водно-спиртовой смеси. Встряхнуть на вортексе. | 30 с | Разбавленная в 200 раз смесью спирта с водой (1:1) аптечная иодная настойка.  Вортекс. |
| 4. |  | Пипетированием взболтать содержимое пробирки до состояния суспензии и отсутствия осадка окрашенного крахмала на дне, нанести 20 мкл суспензии на предметное стекло и накрыть покровным стеклом. | 30 с | Пипетка-дозатор (20-200 мкл)  Предметное стекло  Покровное стекло |
| 5. |  | Получить не менее 4 микрофотографий с разных участков образца крахмала (250–350 гранул в каждом изображении). | 20 мин | Микроскоп с возможностью получения цифровых фотографий |
| 6. | - | Откалибровать ImageJ для работы с изображениями в микрометрах. | 3 мин | Компьютер  Программа ImageJ |
| 7. | - | Открыть изображение гранул крахмала. | 30 с | Компьютер  Программа ImageJ |
| 8. | - | Выполнить преобразование в 8-мибитный рисунок Image → Type → 8 bit. | 30 с | Компьютер  Программа ImageJ |
| 9. | - | Установить пределы распознавания Image → Adjust → Threshold…, нажать «Apply». | 1 мин | Компьютер  Программа ImageJ |
| 10. | - | Разделить соприкасающиеся частицы Process → Binary → Watershed | 30 с | Компьютер  Программа ImageJ |
| 11. | - | Выбрать измеряемые параметры Analyze → Set measurements… | 2 мин | Компьютер  Программа ImageJ |
| 12. | - | Провести измерение Analyze → Analyze particles… | 30 с | Компьютер  Программа ImageJ |
| 13. | - | Скопировать или сохранить результаты измерений из получившейся таблицы в формате, читаемом программой для последующей обработки, например, Excel. | 1 мин | Компьютер  Программа ImageJ |
| 14. | - | Повторить шаги 7-13 для остальных изображений этого же образца. | 3\*6 мин | Компьютер  Программа ImageJ |
| 15. |  | При необходимости, организовать данные в виде гистограммы. | 10 мин | Компьютер  Программа для статистической обработки данных |

Длительность работ и квалификация задействованных сотрудников:

Суммарная длительность СОП для анализа 1 образца: 59,5 мин, в том числе:

1. приготовление препарата – 2,5 мин;
2. микроскопирование – 20 мин;
3. обработка данных с помощью компьютерных программ – 37 мин;
4. перемещение из комнаты в комнату в процессе процедуры – 0,5 мин.

Квалификация сотрудника:

На этапах 1–14: инженер, обученный работе на микроскопе и с компьютерной программой ImageJ (50 мин).

На этапе 15: научный сотрудник (10 мин).

Таблица – Расходные материалы и личные средства защиты

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Наименование | Единица измерения | Израсходовано единиц (для многоразовых ставится дробное число: 1/n, где n – сколько раз можно использовать) |
| Шпатель | шт. | 1,00 |
| Предметное стекло | шт. | 1,00 |
| Покровное стекло | шт. | 1,00 |
| Халат лабораторный | шт. | 0,01 |
| Перчатки нитриловые | пара | 1,00 |
| Дозатор (20–200 мкл) | шт. | 0,01 |
| Дозатор (100–1000 мкл) | шт. | 0,01 |
| Наконечник пластиковый на пипетку – 200 мкл | шт. | 1,00 |
| Наконечник пластиковый на пипетку – 1000 мкл | шт. | 1,00 |
| Пробирка пластиковая 1,5 мл | шт. | 1,00 |

Таблица – Компьютерные программы

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Наименование (версия) | Web-ссылка на платную версию | Бесплатный аналог (если есть), ссылка |
| ImageJ | -------- | http://imagej.net/Welcome |
| Microsoft excel | Microsoft.com | OpenOffice Excel |

Оборудование:

Весы аналитические (Adventurer AX124 производитель Ohaus)

Микроскоп (Axio Scope A1 Carl ZEISS)

Компьютер (Asus Китай)

Вортекс персональный для пробирок