
МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
34284—
2017

**ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА,
ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ,
ОБЪЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЖИВОТНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Метод обнаружения анаболических стимуляторов
роста с помощью иммуноферментного анализа
с хемилюминесцентной детекцией с использованием
технологии биочипов**

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2018

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 сентября 2017 г. № 103-П)

За принятие проголосовали:

| Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Сокращенное наименование национального органа по стандартизации |
|---|------------------------------------|---|
| Армения | AM | Минэкономики Республики Армения |
| Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |
| Киргизия | KG | Кыргызстандарт |
| Россия | RU | Росстандарт |
| Узбекистан | UZ | Узстандарт |

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 ноября 2017 г. № 1738-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34284—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2018 г.

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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 (www.gost.ru)

© Стандартиформ, оформление, 2017, 2018



В Российской Федерации 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

Поправка к ГОСТ 34284—2017 Продукты пищевые, корма, продовольственное сырье, объекты биологические животного происхождения. Метод обнаружения анаболических стимуляторов роста с помощью иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной детекцией с использованием технологии биочипов (Издание, ноябрь 2018 г.)

| В каком месте | Напечатано | Должно быть |
|--------------------------------|---|---------------|
| Пункт 7.1, первое перечисление | максимальной нагрузкой не более 150 г и | — |
| второе перечисление | $\pm 0,02$ мг; | $\pm 0,5$ мг; |

(ИУС № 1 2020 г.)

**ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ,
ОБЪЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Метод обнаружения анаболических стимуляторов роста с помощью иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной детекцией с использованием технологии биочипов

Food products, feed, food raw materials, biological objects of animal origin. Method for the detection of anabolic growth promoters by the hemiluminescence immunoenzymatic assay with the use of biochip technology

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты в части мяса всех видов животных (включая бескостное, парное, охлажденное, замороженное и размороженное), мясокостный и кусковой полуфабрикаты, корма, а также биологические объекты животного происхождения (мочу) и устанавливает иммуноферментный метод с хемилюминесцентной детекцией обнаружения с использованием биочипов β-агонистов (кленбутерол, карбутерол, бромбутерол, салбутамол, метилкленбутерол, тербуталин, мабутерол, пирбутерол, малентерол, кимбутерол), болденона, кортикостероидов (дексаметазон, флюметазон, бетаметазон), нандролона, рактопамина, станозолола, стильбенов (диэтилстилбестрол, гексаэстрол), тренболон, зеранола.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты*

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2652—78 Калия бихромат технический. Технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ ISO 6497—2014 Корма. Отбор проб

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

ГОСТ 7269—2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13496.0—2016 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя за текущий год. 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 тест-система: Набор (комплект) специально подобранных реагентов (реактивов) и составных частей, предназначенный для определения одного или нескольких конкретных веществ.

3.2 вспомогательный раствор: Раствор, приготавливаемый заблаговременно и необходимый для приготовления других типов растворов.

3.3 рабочий раствор: Раствор одного или нескольких реагентов, приготавливаемый непосредственно перед использованием и необходимый для выполнения процедуры анализа.

3.4 коэффициент перекрестного реагирования: Коэффициент, характеризующий степень взаимодействия антител с близкородственными к определяемому компоненту соединениями.

3.5 биологические объекты животного происхождения: Все формы тканей животных (кожа, костная и хрящевая ткань, кровь и т. п.), все производные формы эпидермиса, продукты жизнедеятельности животных, в том числе их биологические выделения.

4 Сущность метода

4.1 Для обнаружения анаболических стимуляторов роста используют метод прямого твердофазного иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной детекцией.

4.2 Сущность метода основана на конкуренции анаболических стимуляторов роста, адсорбированных на дискретных участках биочипов, и свободных анаболических стимуляторов роста, присутствующих в градуировочных растворах или растворах проб, за активные центры связывания антител (АТ), меченных пероксидазой хрена. В ходе иммуноспецифической реакции образуются комплексы АТ — анаболические стимуляторы роста. Комплекс антиген — антитела (АГ — АТ), который не связан с поверхностью биочипа, удаляют на стадии промывки. После добавления раствора субстрата регистрируют значение интенсивности люминесценции, характеризующее степень взаимодействия АТ с АГ.

Измеренная величина обратно пропорциональна массовой концентрации определяемых веществ в растворе.

5 Пределы обнаружения анаболических стимуляторов роста и специфичность АТ, выраженная в коэффициентах перекрестного реагирования

5.1 Пределы обнаружения анаболических стимуляторов роста представлены в таблице 1.

Таблица 1

| Определяемый компонент | Предел обнаружения, мкг/кг | | |
|---|----------------------------|-------|------|
| | мясо | корма | моча |
| Суммарное содержание β -агонистов | 0,2 | 8 | 0,2 |
| Болденон | 0,5 | 140 | 0,8 |

Окончание таблицы 1

| Определяемый компонент | Предел обнаружения, мкг/кг | | |
|---------------------------------------|----------------------------|-------|------|
| | мясо | корма | моча |
| Суммарное содержание кортикостероидов | 0,4 | 10 | 0,2 |
| Нандролон | 1,4 | 170 | 2,0 |
| Рактопамин | 0,3 | 2 | 0,2 |
| Станозолол | 0,4 | 9 | 0,4 |
| Суммарное содержание стильбенов | 0,9 | 25 | 0,4 |
| Тренболон | 0,1 | 8 | 0,4 |
| Зеранол | 0,3 | 15 | 0,8 |

5.2 Специфичность АТ, применяемых для обнаружения анаболических стимуляторов роста, выраженная в коэффициентах перекрестного реагирования, представлена в таблице 2.

Таблица 2

| Определяемый компонент | Коэффициент перекрестного реагирования, % |
|---|---|
| β -агонисты: | |
| кленбутерол | 100 |
| карбутерол | 104 |
| бромбутерол | 88 |
| салбутамол | 70 |
| метилкленбутерол | 20 |
| кимбутерол | 54 |
| тербуталин | 22 |
| мабутерол | 41 |
| пирбутерол | 15 |
| мапентерол | 113 |
| Болденон: | |
| 17- β -болденон | 100 |
| 1,4-андростадиен-3,17-дион | 55 |
| 17- α -болденон | 15 |
| болденон глюкуронид | 15 |
| Кортикостероиды: | |
| дексаметазон | 100 |
| флюметазон | 57 |
| бетаметазон | 31 |
| дексаметазон-21 ацетат | 27 |
| бетаметазон-21ацетат | 133 |
| Нандролон: | |
| 19-нортестостерон (17 β) | 100 |
| тренболон (17 β) | 70 |
| тренболон ацетат | 109 |
| 19-нортестостерон (17 α) | 27 |
| 19-нортестостерон (17 β) сульфат | 55 |
| 19-нортестостерон β глюкуронид | 26 |
| Рактопамин | 100 |
| Рактопамин гидрохлорид | 100 |

Окончание таблицы 2

| Определяемый компонент | Коэффициент перекрестного реагирования, % |
|----------------------------------|---|
| Станозолол | 100 |
| 16 β -гидроксистеранозолол | 45 |
| Стильбены: | |
| гексаэстрол | 100 |
| диэтилстилбестрол | 105 |
| диэтилстилбестрол глюкуронид | 289 |
| диенаэстрол | 72 |
| Тренболон: | |
| 17- β -trenbolone | 100 |
| 17- α -trenbolone | 21 |
| Зеранол: | |
| α -зеранол | 100 |
| β -зеранол | 10 |
| | 5,3 |

6 Требования безопасности и условия выполнения измерений

6.1 При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

6.2 Помещения, в которых проводятся анализ и подготовка проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией и соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и электробезопасности по ГОСТ 12.1.019.

6.3 К выполнению измерений допускаются специалисты, имеющие высшее или среднее специальное образование, прошедшие соответствующий инструктаж, владеющие техникой ИФА-Х и изучившие инструкции по применению тест-системы и инструкции по эксплуатации используемых приборов.

6.4 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 15 до 27 °С;
- относительная влажность воздуха от 20 до 80 %.

7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы

7.1 При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и посуду:

- весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с максимальной нагрузкой не более 150 г и пределами допускаемой абсолютной погрешности $\pm 0,01$ г;
- весы утвержденного типа, поверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более $\pm 0,02$ мг;
- анализатор полуавтоматический иммунохимический, включающий в себя:
 - а) компьютер с установленным программным обеспечением для управления и обработки результатов измерений;
 - б) камеру с зарядовой связью для регистрации хемилюминесценции;
 - в) держатель кассеты;
 - г) термощейкер;
 - д) сканер баркода;
- рН-метр любой марки, позволяющий проводить измерения в диапазоне от 3 до 10 ед. рН с погрешностью $\pm 0,05$ ед. рН;
- баню водяную с терморегулятором, позволяющим поддерживать температуру от 30 до 100 °С, с отклонением от заданной температуры не более ± 5 °С;
- мельницу лабораторную для кормов;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;

- иммуноаффинные колонки, заполненные сорбентом с иммобилизованными на нем АТ про-тив β -агонистов, болденона, кортикостероидов, нандролона, рактопамина, станозолола, стильбе-нов, тренболон, зеранола, с максимальной сорбируемой концентрацией по определяемым соеди-нениям 25 нг;
- испаритель роторный любого типа или устройство для испарения экстрактов, с термостатиру-емым нагревательным модулем, поддерживающим температуру от 25 до 200 °С, с системой отдувки растворителей инертным газом;
- систему получения деионизированной воды высокой чистоты;
- устройство вакуумное для твердофазной экстракции;
- камеру лабораторную морозильную с рабочим диапазоном температур от минус 15 °С до ми-нус 25 °С;
- холодильник бытовой с рабочим диапазоном температур от 2 до 8 °С;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения не менее 4750 об/мин и диапазоном температур от 4 до 25 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15 и 50 см³;
- шейкер вертикального вращения 360° в одной плоскости с адаптером для пробирок и диапазо-ном скорости от 20 до 100 об/мин;
- шейкер вихревого типа, с вставкой для одной пробирки и диапазоном скорости от 150 до 2500 об/мин;
- термшейкер орбитального вращения, с диапазоном скорости от 250 до 1200 об/мин и обеспе-чивающий режим термостатирования от 25 до 60 °С;
- шкаф сушильный любого типа, обеспечивающий поддержание температуры (95 ± 5) °С;
- бумагу индикаторную универсальную, рН 0—12 ед. рН;
- бумагу фильтровальную лабораторную по ГОСТ 12026;
- мембранные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм;
- посуду из полимерного материала с навинчиваемой крышкой;
- колбы мерные 2—50(100,500,1000)—2 по ГОСТ 1770;
- колбы со шлифом Кн-1—250(1000)—29/32 ТС по ГОСТ 25336;
- пипетки многоканальные переменной вместимости 0,03—0,3 см³, с допустимой относительной погрешностью дозирования по метанолу и ацетонитрилу не более ± 1,0 %;
- пипетки одноканальные переменной вместимости 0,005—0,05; 0,1—1,0; 0,5—5,0 см³ с допусти-мой относительной погрешностью дозирования по метанолу и ацетонитрилу не более ± 1 %;
- пробирки стеклянные типа П1-16—150 ХС по ГОСТ 25336;
- пробирки полипропиленовые вместимостью 15 и 50 см³ с завинчивающимися крышками;
- пробирки микроцентрифужные вместимостью 1,5 см³;
- стакан В-1—150 ТС по ГОСТ 25336;
- цилиндры 1—10(100,250,500)—1 по ГОСТ 1770.

7.2 При выполнении измерений применяют следующие реактивы:

- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- калия бихромат по ГОСТ 2652;
- кислоту серную по ГОСТ 4204;
- кислоту соляную по ГОСТ 3118 х. ч.;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.;
- оксид алюминия нейтральный;
- спирт этиловый (этанол) по ГОСТ 5962;
- кислоту уксусную ледяную по ГОСТ 61;
- бета-глюкуронидазу;
- метанол для ВЭЖХ-МС с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %;
- воду деионизированную для ВЭЖХ с удельным сопротивлением 18 МОм · см при температуре 25 °С, полученную с использованием системы производства ультрачистой воды из дистиллированной воды по ГОСТ 6709;
- тест-систему в комплектации (см. приложение А), предназначенной для определения анаболи-ческих стимуляторов роста;
- набор реагентов для подготовки проб кормов в комплектации, указанной в приложении В;
- набор реагентов для подготовки проб мочи и мяса в комплектации, указанной в приложе-нии В.

8 Подготовка к выполнению анализа

8.1 Подготовка оборудования

8.1.1 При подготовке к проведению анализа лабораторную стеклянную посуду моют смесью водного раствора бихромата калия с концентрированной серной кислотой, многократно промывают водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

8.1.2 Подготовку и проверку полуавтоматического иммунохимического анализатора и pH-метра проводят в соответствии с руководством по эксплуатации приборов.

8.2 Приготовление растворов

8.2.1 Приготовление хромовой смеси

В колбе со шлифом вместимостью 250 см³ растворяют 5,0 г бихромата калия в 50 см³ дистиллированной воды, затем добавляют 100 см³ концентрированной серной кислоты.

Раствор хранят в колбе со шлифом в вытяжном шкафу при комнатной температуре не более 1 мес. Если раствор приобретает зеленый оттенок, его готовят заново.

8.2.2 Приготовление рабочего раствора буфера для промывки чипов

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ вносят 32 см³ реактива № 8 (см. приложение А), доводят объем раствора деионизированной водой до метки на колбе, перемешивают.

Раствор хранят в колбе со шлифом при температуре от 2 до 8 °С не более 1 мес.

8.2.3 Приготовление промежуточного раствора ферментного конъюгата (ФК)

В стеклянную пробирку вносят 1,98 см³ реактива № 3 (см. приложение А) и 0,02 см³ реактива № 2 (см. приложение А), закрывают пробкой и перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 10 с.

Используют свежеприготовленный раствор.

8.2.4 Приготовление рабочего раствора ФК

В стеклянную пробирку вносят 6 см³ реактива № 3 (см. приложение А) и 0,4 см³ промежуточного раствора ФК (см. 8.2.3).

Используют свежеприготовленный раствор.

Расчет реагентов тест-системы приведен для 54 определений, включая анализ градуировочных растворов.

8.2.5 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрацией 1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 1000 см³, содержащую 500 см³ дистиллированной воды, вносят 85 см³ концентрированной соляной кислоты, доводят дистиллированной водой объем в колбе до метки, закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 1 мес.

8.2.6 Приготовление раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 0,4 г гидроксида натрия, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, перемешивают и доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в плотно закрытой посуде из полимерных материалов в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 1 мес.

8.2.7 Приготовление 5%-го раствора этанола

В колбу вместимостью 250 см³ вносят последовательно 5 см³ этанола и 95 см³ дистиллированной воды, перемешивают.

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 3 сут.

8.2.8 Приготовление 10%-го раствора этанола

В колбу вместимостью 250 см³ вносят последовательно 10 см³ этанола и 95 см³ дистиллированной воды, перемешивают.

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 3 сут.

8.2.9 Приготовление 70%-го раствора этанола

В колбу вместимостью 250 см³ вносят последовательно 70 см³ этанола и 95 см³ дистиллированной воды, перемешивают.

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 3 сут.

8.2.10 Приготовление градуировочных растворов анаболических стимуляторов роста $K_1—K_9$

В девять флаконов с лиофилизированными градуировочными растворами (см. приложение А) вносят по 5 см³ раствора № 1 (см. приложение А) и перемешивают на термошейкере при температуре 25 °С в течение 30 мин, избегая образования пены.

Срок хранения растворов при температуре от 2 до 8 °С — не более 7 сут.

8.2.11 Приготовление раствора субстрата

В стеклянную пробирку вносят 7 см³ раствора № 7 (см. приложение А), затем добавляют 7 см³ раствора № 6 (см. приложение А). Тщательно перемешивают на шейкере вихревого типа в течение 10 с.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 4 ч.

Расчет реагента приведен для 54 определений, включая анализ градуировочных растворов.

8.2.12 Приготовление раствора бета-глюкуронидазы концентрацией 5000 ед./см³

В мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят 250 мг бета-глюкуронидазы и доводят объем раствора до метки на колбе деионизированной водой.

Раствор используют свежеприготовленным.

8.2.13 Приготовление раствора этанола с рН 4,0 ед. рН

В стакан вместимостью 150 см³ вносят 100 см³ этанола, измеряют рН и доводят его значение ледяной уксусной кислотой до 4,0 ед.рН.

Раствор используют свежеприготовленным.

8.2.14 Приготовление раствора для кондиционирования иммуноаффинных колонок

В мерную колбу вместимостью 500 см³ вносят 25 см³ концентрата буфера для промывки колонок (см. приложение В) и доводят объем раствора до метки на колбе деионизированной водой.

Раствор используют свежеприготовленным.

8.2.15 Приготовление раствора для хранения иммуноаффинных колонок

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 20 см³ концентрата буфера для хранения колонок (см. приложение В) и доводят объем раствора до метки на колбе деионизированной водой.

Раствор используют свежеприготовленным.

8.2.16 Приготовление раствора метанол — гидроокись натрия в соотношении 99:1

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 1 см³ раствора гидроокиси натрия (см. 8.2.6) и доводят объем раствора метанолом до метки на колбе.

Раствор используют свежеприготовленным.

8.2.17 Приготовление 70%-го раствора метанола

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 70 см³ метанола и доводят объем раствора дистиллированной водой до метки на колбе.

Срок хранения раствора в вытяжном шкафу при комнатной температуре — не более 3 сут.

8.3 Отбор проб

8.3.1 Отбор проб кормов для животных — по ГОСТ ISO 6497, комбикормов и сырья, используемого при их производстве, — по ГОСТ 13496.0.

8.3.2 Отбор проб мяса — по ГОСТ 7269.

8.3.3 Пробу мочи берут в середине процесса естественного мочеиспускания животного.

8.3.4 До начала анализа пробы, отобранные по 8.3.2, хранят при температуре от 2 до 8 °С. При отсутствии возможности анализа проб в течение 2 сут их замораживают и хранят при температуре минус 24 °С до проведения анализа, но не более 2 мес.

8.4 Подготовка проб**8.4.1 Подготовка проб мочи**

Обработку проб мочи проводят в соответствии с рисунком 1.



Рисунок 1 — Подготовка проб мочи

8.4.2 Подготовка проб мяса, мясокостных и кусковых полуфабрикатов

Мышечную ткань предварительно очищают от грубой соединительной ткани, измельчают в гомогенизаторе и проводят обработку проб в соответствии с рисунком 2.



Рисунок 2 — Подготовка проб мяса, мясокостных и кусковых полуфабрикатов

8.4.3 Подготовка проб кормов

Пробу корма предварительно измельчают и гомогенизируют. Отбирают 1,00 г пробы в полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см³, добавляют 5 см³ 70%-го раствора метанола (см. 8.2.17). Перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 1 мин и центрифугируют при 2880 об/мин в течение 10 мин. Супернатант переносят в полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ и затем отбирают 125 мм³ в пробирку вместимостью 1,5 см³. К осадку добавляют 5 см³ буфера для экстракции кормов (см. приложение В). Перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 1 мин и центрифугируют при 2880 об/мин в течение 10 мин. Отбирают 125 мм³ супернатанта и добавляют его к уже отобранному количеству в пробирку вместимостью 1,5 см³. К объединенным супернатантам добавляют 0,75 см³ рабочего раствора буфера для промывки чипов (см. 8.2.2). Перемешивают 1 мин на шейкере вортексного типа и анализируют с помощью ИФА-Х с использованием технологии биочипов.

9 Проведение иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной детекцией (ИФА-Х) с использованием технологии биочипов

9.1 Общие положения

9.1.1 При проведении анализа следует использовать реагенты, входящие в один и тот же набор (тест-систему). Разбавление или замена реагентов из набора (тест-системы) другой серии не допускается.

9.1.2 Наборы (тест-системы) следует хранить при температуре от 2 до 8 °С в пределах срока хранения.

9.2 Подготовка тест-системы к проведению анализа

9.2.1 Перед использованием тест-систему вынимают из холодильника и выдерживают при температуре (23 ± 5) °С не менее 30 мин, после чего аккуратно встряхивают каждый флакон.

9.2.2 После использования реагенты тест-системы сразу убирают в холодильник.

9.2.3 На всех стадиях необходимо избегать воздействия прямого солнечного света.

9.2.4 Для каждого реактива и раствора используют отдельные съемные наконечники пипеток переменной вместимости. Внесение растворов на биочипы проводят осторожно, не касаясь наконечниками поверхности биочипа.

Примечание — Далее приведены расходы реактивов на шесть кассет с биочипами (по девять в каждой), чего достаточно для анализа 45 анализируемых проб. Используемые биочипы и объем реагентов рассчитывают на основании количества анализируемых проб.

9.3 Проведение анализа

9.3.1 В держатель вставляют необходимое количество биочипов, кратное трем. Неиспользованные биочипы хранят в закрытом фольгированном полиэтиленовом пакете с зип-локом* при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности тест-системы.

9.3.2 Анализ проб и рабочих градуировочных растворов проводят в соответствии с рисунком 3.

* Зип-лок — замок, обеспечивающий герметизацию пакета.

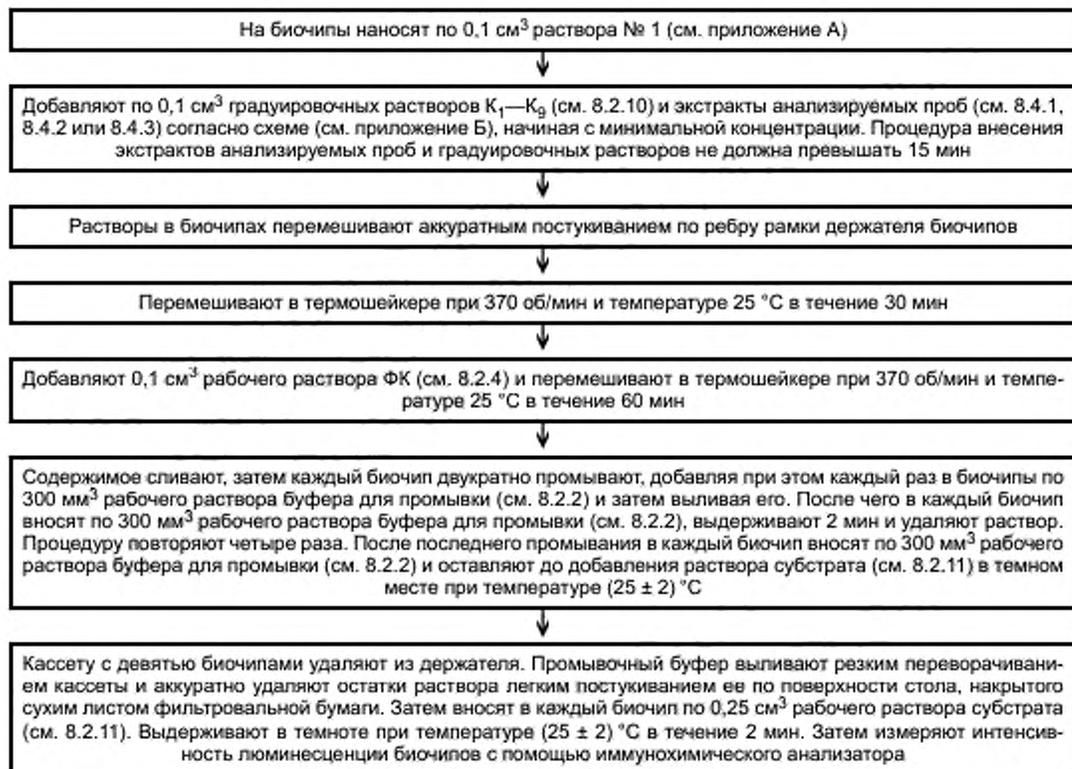


Рисунок 3 — Проведение анализа

10 Обработка результатов измерения

10.1 Обработку проводят с помощью программного обеспечения, позволяющего обнаруживать анаболические стимуляторы роста, указанные в разделе 1, в анализируемой пробе по средним значениям интенсивности люминесценции, измеренным в биочипах с градуировочными растворами и экстрактами анализируемых проб.

10.2 С помощью компьютерной системы обработки данных строят градуировочную зависимость интенсивности люминесценции раствора от массовой концентрации каждого из определяемых соединений.

10.3 Градуировочная зависимость считается приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение коэффициента корреляции R^2 не менее 0,98.

10.4 Результат обнаружения β -агонистов (кленбутерол, карбутерол, бромбутерол, салбутамол, метилкленбутерол, тербуталин, мабутерол, пирбутерол, малентерол, кимбутерол), болденона, кортикостероидов (дексаметазон, флюметазон, бетаметазон), нандролона, рактопамина, станозолола, стибененов (диэтилстилбестрол, гексэстрол), тренболон, зеранола принимают за положительный в пробах, где полученное значение массовой концентрации превышает предел обнаружения по 5.1, а в остальных пробах результат обнаружения принимают за отрицательный.

Приложение А
(справочное)

Комплектация тест-системы «GROWTH PROMOTER MULTIPLE MATRIX SCREEN (GPMS)»

В комплектацию тест-системы входят:

Растворы:

№ 1 — раствор для разведения образцов ($8,0 \pm 0,5$) ед. рН, содержащий белок, ПАВ, блокирующие агенты и консерванты, три флакона по 30 см^3 ;

№ 2 — концентрат ФК (1600-кратный концентрат), ($7,2 \pm 0,5$) ед. рН, один флакон по $750,0 \text{ мм}^3$;

№ 3 — буфер для разведения ФК ($8,0 \pm 0,5$) ед. рН, два флакона по 8 см^3 ;

№ 4 — шесть кассет по девять биочипов в каждой с нанесенными на дискретные участки антителами против β -агонистов (кленбутерол, карбутерол, бромбутерол, салбутамол, метилкленбутерол, тербуталин, мабутерол, пирбутерол, мапентерол, кимбутерол), болденона, кортикостероидов (дексаметазон, флюметазон, бетаметазон), нандролона, рактопamina, станозолола, стильбенов (диэтилстилбестрол, гексэстрол), тренболонa, зеранолa;

№ 5 — лиофилизированные градуировочные растворы, девять флаконов;

Концентрации градуировочных растворов указаны в таблице А.1.

Таблица А.1

| Компонент | № флакона | | | | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| | Концентрация, нг/см ³ | | | | | | | | |
| β -агонисты | 0 | 0,03 | 0,07 | 0,13 | 0,26 | 0,53 | 1,05 | 2,11 | 4,21 |
| Болденон | 0 | 0,03 | 0,07 | 0,14 | 0,28 | 0,55 | 1,11 | 2,22 | 4,43 |
| Кортикостероиды | 0 | 0,04 | 0,07 | 0,14 | 0,29 | 0,58 | 1,15 | 2,3 | 4,61 |
| Нандролон | 0 | 0,07 | 0,14 | 0,27 | 0,54 | 1,09 | 2,18 | 4,35 | 8,70 |
| Рактопaмин | 0 | 0,03 | 0,07 | 0,14 | 0,28 | 0,55 | 1,11 | 2,22 | 4,43 |
| Станозолол | 0 | 0,03 | 0,07 | 0,14 | 0,27 | 0,55 | 1,09 | 2,18 | 4,36 |
| Стильбены | 0 | 0,04 | 0,08 | 0,17 | 0,30 | 0,53 | 1,18 | 2,66 | 5,32 |
| Тренболон | 0 | 0,03 | 0,06 | 0,12 | 0,23 | 0,46 | 0,92 | 1,84 | 3,69 |
| Зеранол | 0 | 0,02 | 0,05 | 0,13 | 0,30 | 0,63 | 1,18 | 2,37 | 4,74 |

№ 6 — раствор люминола, один флакон — $10,0 \text{ см}^3$;

№ 7 — раствор перекиси водорода, один флакон — $10,0 \text{ см}^3$;

№ 8 — концентрат промывочного буфера (20 мМ Трис 7,4 ед. рН, содержащий ПАВ и консерванты), один флакон — $32,0 \text{ см}^3$;

№ 9 — лиофилизированные контрольные растворы, содержащие β -агонисты, болденон, кортикостероиды, нандролон, рактопaмин, станозолол, стильбены, тренболон, зеранол, девять флаконов.

**Приложение Б
(рекомендуемое)**

Схема заполнения кассет с биочипами, вставленными в держатель

Внесение реагентов следует проводить согласно следующей схеме:

| | | | | | | | | |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| К1 | К2 | К3 | № 1 | № 2 | № 3 | № 10 | № 11 | № 12 |
| К4 | К5 | К6 | № 4 | № 5 | № 6 | № 13 | № 14 | № 15 |
| К7 | К8 | К9 | № 7 | № 8 | № 9 | № 16 | № 17 | № 18 |
| № 19 | № 20 | № 21 | № 28 | № 29 | № 30 | № 37 | № 38 | № 39 |
| № 22 | № 23 | № 24 | № 31 | № 32 | № 33 | № 40 | № 41 | № 42 |
| № 25 | № 26 | № 27 | № 34 | № 35 | № 36 | № 43 | № 44 | № 45 |

**Приложение В
(обязательное)**

Наборы для пробоподготовки

Набор для подготовки проб мочи и мяса:

- 1) Иммуноаффинные колонки — 5 шт.
- 2) Концентрат буфера для промывки колонок (20-кратный), два флакона по 100 см³.
- 3) Концентрат буфера для хранения колонок (5-кратный), два флакона по 100 см³.

Набор для подготовки проб кормов:

Буфер для экстракции, два флакона по 250 см³.

Ключевые слова: продукты пищевые, корма, продовольственное сырье, анаболические стимуляторы роста, иммуноферментный анализ с хемилюминесцентной детекцией, тест-система, антиген, антитела, технология биочипов, оптическая плотность, ферментный конъюгат

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 15.11.2018. Подписано в печать 28.11.2018. Формат 60 × 84¹/₈. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Поправка к ГОСТ 34284—2017 Продукты пищевые, корма, продовольственное сырье, объекты биологические животного происхождения. Метод обнаружения анаболических стимуляторов роста с помощью иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной детекцией с использованием технологии биочипов (Издание, ноябрь 2018 г.)

| В каком месте | Напечатано | Должно быть |
|--------------------------------|---|---------------|
| Пункт 7.1, первое перечисление | максимальной нагрузкой не более 150 г и | — |
| второе перечисление | $\pm 0,02$ мг; | $\pm 0,5$ мг; |

(ИУС № 1 2020 г.)