МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34677— 2020

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Иммуноферментный метод определения остаточного содержания линкозамидов

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «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 31 августа 2020 г. № 132-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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 7 октября 2020 г. № 752-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34677—2020 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации 1 марта 2021 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2020

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 34677—2020 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания линкозамидов

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Украина	UA	Минэкономразвития Украины

(ИУС № 2 2021 г.)

Поправка к ГОСТ 34677—2020 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания линкозамидов

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения

(ИУС № 1 2024 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Иммуноферментный метод определения остаточного содержания линкозамидов

Food products, food raw materials.
Immunoenzyme method for determination of residual content of lincosamides

Дата введения — 2021—03—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо всех видов животных, мясо птицы, субпродукты животного происхождения (печень, почки), яйца, молоко (сырое, пастеризованное), молочные продукты (сливки, сметана, ряженка, творог), мед и устанавливает иммуноферментный метод определения остаточного содержания линкозамидов (линкомицина, клиндамицина*) в диапазоне измерений: от 40 до 4000 мкг/кг для мяса, субпродуктов и меда; от 4 до 400 мкг/кг — для молока, молочных продуктов, яиц.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

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

ГОСТ 334 Бумага масштабно-координатная. Технические условия

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

ГОСТ 2652 Калия бихромат технический. Технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия

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

ГОСТ 10873 Аммоний сернокислый (сульфат аммония) очищенный. Технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 19792—2017 Мед натуральный. Технические условия

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

* Синтетический аналог линкомицина.

Издание официальное

ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 31467 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ 31654—2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-6—2003* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов в сети Интернет на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **тест-система:** Набор (комплект) специально подобранных реагентов (реактивов) и составных частей, предназначенный для определения одного или нескольких конкретных веществ.

3.1.2 **рабочий раствор:** Раствор одного или нескольких реактивов, приготовляемый непосредственно перед использованием и необходимый для выполнения процедуры анализа.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

АГ — антиген;
АТ — антитела;
БСА — бычий сывороточный альбумин;
ИФА — иммуноферментный анализ;
ОП — относительное поглощение;
ОТ — буфер для отмывки;
РС — рабочий раствор субстрата;
ФСБТ-БСА — фосфатно-солевой буферный раствор с 0,05 %-ным Твина-20 и 1 %-ным бычьим сывороточным альбумином;
ФК — ферментный конъюгат;
ЭБ — буфер для экстракции.

4 Сущность метода

4.1 Метод основан на измерении содержания массовой доли линкозамидов (линкомицина, клиндамицина) в растворах экстрактов анализируемых проб с помощью прямого твердофазного конкурентного ИФА.

4.2 Аналитический сигнал (регистрируемое значение ОП), характеризующий степень взаимодействия АТ с АГ, обратно пропорционален массовой концентрации линкозамидов в растворе. Вычисление массовой концентрации линкозамидов в растворах экстрактов анализируемых проб проводят с использованием построенной градуировочной зависимости. При построении градуировочной зависимости используют массовую концентрацию линкомицина.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

5 Требования безопасности и условия выполнения измерений

5.1 При работе с химическими реактивами необходимо соблюдать общие требования безопасности обращения с вредными веществами, установленные ГОСТ 12.1.007. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

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

5.3 К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих высшее специальное образование, прошедших соответствующий инструктаж, владеющих техникой ИФА и изучивших инструкции по применению тест-систем и инструкции по эксплуатации используемых приборов.

5.4 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . от 18 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха . . . . . от 40 % до 80 %.

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

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

- весы высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой погрешности ±0,01 г;
- весы специального класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,4 мг;
- компьютер с установленным программным обеспечением* для управления и обработки результатов измерений;
- анализатор иммуноферментный, позволяющий проводить измерение относительного поглощения при длинах волн 450 нм, диапазон измерений ОП от 0,01—3,0 ед.ОП с погрешностью измерений от 0 до 2,0 ед.ОП $\pm$ (0,01*ОП+0,010); от 2,0 до 3,0 ед.ОП $\pm$ (0,015*ОП+0,010);
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- микроцентрифугу лабораторную с диапазоном температур охлаждения от 4 °С до 20 °С любого типа с частотой вращения 10 000 об/мин с адаптером для пробирок вместимостью 1,5 и 2,0 $см^3$;
- камеру морозильную любого типа, обеспечивающую среднюю температуру не выше минус 18 °С;
- холодильник бытовой, обеспечивающий поддержание температуры в холодильной камере в диапазоне от 2 °С до 8 °С;
- центрифугу лабораторную с диапазоном температур охлаждения от 4 °С до 20 °С, с бакет-ротором и адаптером для пробирок вместимостью 15 и 50 $см^3$, частотой вращения 4000 об/мин;
- шейкер вортексного типа с диапазоном скорости от 150 об/мин;
- шейкер орбитальный/возвратно-поступательный или переворачивающего типа с частотой не менее 20 $мин^{-1}$;
- шкаф сушильный любого типа, обеспечивающий поддержание температуры (95 ± 5) °С;
- бумагу масштабно-координатную по ГОСТ 334, марки Н-1;
- бумагу фильтровальную лабораторную по ГОСТ 12026;
- колбы 2—50(1000)—2 по ГОСТ 1770;
- колбы Кн—100(250)—14/23 по ГОСТ 25336;
- колбы со шлифом Кн-1—50(250;1000)—29/32 ТС по ГОСТ 25336;
- дозаторы пипеточные с комплектом одноразовых наконечников с диапазоном объемов дозирования от 0,03 до 0,30 $см^3$, с допустимой относительной погрешностью дозирования по дистиллированной воде 2,5 %;
- дозаторы пипеточные с комплектом одноразовых наконечников с диапазоном объемов дозирования — от 0,005 до 0,050 $см^3$; от 0,1 до 1,0 $см^3$; от 0,5 до 5,0 $см^3$, с допустимой относительной погрешностью дозирования по дистиллированной воде 2,5 %;

---

* Например, Magellan™ V 7.0, TECAN Austria GmbH, Австрия. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможности использования другого программного обеспечения с аналогичными характеристиками.

- пипетку градуированную 1—1—1—1 по ГОСТ 29227;
- пробирки микроцентрифужные вместимостью 1,5 и 2,0 $см^3$;
- пробирки для центрифугирования полипропиленовые вместимостью 15 и 50 $см^3$ с завинчивающимися крышками;
- цилиндры 1—10(50, 100, 1000)—1 по ГОСТ 1770.

6.2 При выполнении измерений применяют следующие реактивы:

- аммония сульфат по ГОСТ 10873;
- альбумин бычий сывороточный (БСА), V фракция, с содержанием основного вещества не менее 96 %;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- калия бихромат по ГОСТ 2652;
- кислоту серную концентрированную по ГОСТ 4204;
- кислоту соляную концентрированную по ГОСТ 3118, плотностью 1,19 $г/см^3$, х. ч;
- метанол по ГОСТ 6995, х. ч;
- тест-систему для прямого твердофазного конкурентного ИФА в комплектации (см. приложение А), которая предназначена для определения линкозамидов (наборы тест-системы следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока хранения).

6.3 Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования и посуды, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов, по качеству не ниже вышеуказанных.

7 Подготовка к проведению иммуноферментного анализа

7.1 Подготовка оборудования

7.1.1 При подготовке к проведению анализа лабораторную стеклянную посуду моют хромовой смесью, многократно промывают водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

7.1.2 Подготовку и проверку иммуноферментного анализатора проводят в соответствии с руководством по эксплуатации прибора.

7.2 Приготовление растворов

7.2.1 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрацией 2,5 ммоль/$дм^3$

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ вносят 900 $см^3$ дистиллированной воды, затем 215 $мм^3$ концентрированной соляной кислоты, доводят объем раствора водой до метки, закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Не рекомендуется вливать воду в концентрированную кислоту!

Раствор хранят в колбе со шлифом в вытяжном шкафу при температуре от 18 °С до 25 °С — не более 6 мес.

7.2.2 Приготовление буфера для экстракции ЭБ

В коническую колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 60 $см^3$ соляной кислоты (см. 7.2.1) и 10 $см^3$ метанола, закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения).

7.2.3 Приготовление раствора сульфата аммония молярной концентрацией 1 моль/$дм^3$

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ вносят 6,6 г сульфата аммония, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, доводят объем до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

Раствор хранят в колбе со шлифом при температуре от 18 °С до 25 °С — не более 4 мес.

7.2.4 Приготовление буфера для разведения ФСБТ-БСА

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ вносят 0,5 г БСА, который растворяют в 2 $см^3$ раствора № 1 (см. приложение А), затем доводят объем раствора дистиллированной водой до метки, закрывают пробкой и аккуратно перемешивают.

Раствор хранят в колбе со шлифом при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 7 сут.

7.2.5 Приготовление хромовой смеси

В конической колбе вместимостью 250 $см^3$ растворяют 5,0 г бихромата калия в 50 $см^3$ дистиллированной воды, затем добавляют 100 $см^3$ концентрированной серной кислоты.

Раствор хранят в колбе со шлифом в вытяжном шкафу при температуре от 18 °С до 25 °С — не более 1 мес. Если раствор приобретает зеленый оттенок, его готовят заново.

7.2.6 Приготовление рабочих градуировочных растворов

7.2.6.1 Приготовление исходного раствора линкомицина $К_{исх}$ массовой концентрацией 10 000 $нг/см^3$

В пробирку вместимостью 1,5 $см^3$ вносят 495 $мм^3$ ФСБТ-БСА (см. 7.2.4) и 5 $мм^3$ раствора № 2 (см. приложение А), закрывают пробкой, перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 15 с.

7.2.6.2 Приготовление рабочих градуировочных растворов линкомицина $К_0$—$К_5$

Рабочие градуировочные растворы $К_0$—$К_5$ готовят в пробирках вместимостью 1,5 $см^3$ согласно таблице 1.

Таблица 1

Обозначение и массовая концентрация приготовляемого раствора линкомицина	Вносимый объем, $мм^3$					
	ФСБТ-БСА	исходного раствора $К_{исх}$	рабочего раствора $К_5$	рабочего раствора $К_4$	рабочего раствора $К_3$	рабочего раствора $К_2$
$К_5$ (625 $нг/см^3$)	937,5	62,5	—	—	—	—
$К_4$ (125 $нг/см^3$)	480	—	120	—	—	—
$К_3$ (25 $нг/см^3$)	480	—	—	120	—	—
$К_2$ (5 $нг/см^3$)	480	—	—	—	120	—
$К_1$ (1 $нг/см^3$)	480	—	—	—	—	120
$К_0$ (0 $нг/см^3$)	500	—	—	—	—	—

Пробирки закрывают крышками и перемешивают на шейкере вортексного типа в течение 15 с.

Используют свежеприготовленные растворы (приготовленные не более чем за 8 ч до их применения).

7.2.7 Приготовление рабочего раствора буфера для отмывки ОТ

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ вносят 2 $см^3$ раствора № 1 (см. приложение А), доводят объем раствора дистиллированной водой до метки, закрывают пробкой и аккуратно перемешивают.

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

7.2.8 Приготовление рабочего раствора ферментного конъюгата ФК

В микроцентрифужную пробирку вместимостью 1,5 $см^3$ вносят 1,26 $см^3$ ФСБТ-БСА (см. 7.2.4), добавляют 0,14 $см^3$ раствора № 3 (см. приложение А), закрывают пробкой и аккуратно перемешивают. Указанное количество рабочего раствора ферментного конъюгата предназначено для анализа четырех проб (при внесении в двух повторностях) в соответствии с приложением Б.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения).

7.2.9 Приготовление рабочего раствора субстрата РС

В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 $см^3$ вносят 2,5 $см^3$ раствора № 4 (см. приложение А), 0,25 $см^3$ раствора № 5 (см. приложение А), закрывают пробкой и аккуратно перемешивают. Указанное количество рабочего раствора субстрата предназначено для анализа четырех проб (при внесении в двух повторностях) в соответствии с приложением Б.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения).

Раствор светочувствителен, поэтому его необходимо беречь от прямых солнечных лучей. При окрашивании раствора субстрата РС в процессе приготовления необходимо избавиться от окрашенного раствора, взять чистую пробирку и приготовить новую порцию раствора.

7.3 Отбор проб

7.3.1 Отбор проб мяса и субпродуктов — по ГОСТ 7269.

7.3.2 Отбор проб мяса птицы — по ГОСТ 31467.

7.3.3 Отбор проб молока и молочных продуктов — по ГОСТ 26809.1—2014 (пункт 7.1).

7.3.4 Отбор проб яиц — по ГОСТ 31654—2012 (пункт 7.1).

7.3.5 Отбор проб меда — по ГОСТ 19792.

7.3.6 Срок хранения отобранных проб при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 2 сут.

Пробы, отобранные по 7.3.1, 7.3.2, при отсутствии возможности анализа в день отбора, замораживают и хранят при температуре не выше минус 18 °С до проведения анализа, но не более 2 мес.

7.4 Подготовка проб

7.4.1 Подготовка проб мяса, субпродуктов, меда

Пробу предварительно очищают от жира, грубой соединительной ткани и измельчают на гомогенизаторе.

Подготовка проб меда — по ГОСТ 19792—2017 (подраздел 7.2).

Взвешивают (2,00 ± 0,01) г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 50 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ ЭБ (см. 7.2.2), перемешивают 15 мин на шейкере и центрифугируют 15 мин при частоте вращения 4000 об/мин и температуре от 20 °С до 25 °С. 0,1 $см^3$ верхнего слоя переносят в микроцентрифужную пробирку вместимостью 1,5 $см^3$, вносят по 0,3 $см^3$ ФСБТ-БСА (см. 7.2.4), перемешивают 20 с на шейкере вортексного типа и используют для проведения ИФА в соответствии с разделом 8.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения). Коэффициент разведения проб равен 20. Для получения двух результатов измерений, выполненных в условиях повторяемости, для каждой пробы проводят два параллельных анализа, одновременно подвергнутых процедуре пробоподготовки.

7.4.2 Подготовка проб яиц

Яйца отделяют от скорлупы и перемешивают на гомогенизаторе.

(0,500 ± 0,001) г гомогенизированной пробы помещают в микроцентрифужную пробирку вместимостью 1,5 $см^3$, добавляют 0,5 $см^3$ раствора сульфата аммония (см. 7.2.3), перемешивают 15 мин на шейкере вортексного типа и центрифугируют 15 мин при частоте вращения 15 000 об/мин и температуре 4 °С. Надосадочный слой используют для проведения ИФА в соответствии с разделом 8.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения). Коэффициент разведения проб равен 2. Для получения двух результатов измерений, выполненных в условиях повторяемости, для каждой пробы проводят два параллельных анализа, одновременно подвергнутых процедуре пробоподготовки.

7.4.3 Подготовка проб молока, сливок

(0,500 ± 0,001) г пробы помещают в микроцентрифужную пробирку вместимостью 1,5 $см^3$, добавляют 0,5 $см^3$ раствора сульфата аммония (см. 7.2.3), перемешивают 15 мин на шейкере вортексного типа и центрифугируют 15 мин при частоте вращения 15 000 об/мин и температуре 4 °С. Надосадочный слой используют для проведения ИФА в соответствии с разделом 8.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения). Коэффициент разведения проб равен 2. Для получения двух результатов измерений, выполненных в условиях повторяемости, для каждой пробы проводят два параллельных анализа, одновременно подвергнутых процедуре пробоподготовки.

7.4.4 Подготовка проб сметаны, ряженки

(1,00 ± 0,01) $см^3$ пробы ряженки [(1,00 ± 0,01) г пробы сметаны] помещают в полипропиленовую пробирку вместимостью 15 $см^3$, добавляют 4 $см^3$ раствора сульфата аммония (см. 7.2.3), перемешивают 15 мин на шейкере вортексного типа и центрифугируют 15 мин при частоте вращения 4000 об/мин и температуре 4 °С.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения). Коэффициент разведения проб равен 5. Для получения двух результатов измерений, выполненных в условиях повторяемости, для каждой пробы проводят два параллельных анализа, одновременно подвергнутых процедуре пробоподготовки.

7.4.5 Подготовка проб творога

(1,00 ± 0,01) г гомогенизированной пробы помещают в полипропиленовую пробирку вместимостью 50 $см^3$, добавляют 5 $см^3$ ЭБ (см. 7.2.2), перемешивают 15 мин на шейкере и центрифугируют 15 мин при частоте вращения 4000 об/мин и температуре 4 °С. 0,1 $см^3$ верхнего слоя переносят в микроцентри-

фужные пробирки вместимостью 1,5 см^3, вносят 0,3 см^3 ФСБТ-БСА (см. 7.2.4), перемешивают 20 с на шейкере вортексного типа и используют для проведения ИФА в соответствии с разделом 8.

Используют свежеприготовленный раствор (приготовленный не более чем за 8 ч до его применения). Коэффициент разведения проб равен 20. Для получения двух результатов измерений, выполненных в условиях повторяемости, для каждой пробы проводят два параллельных анализа, одновременно подвергнутых процедуре пробоподготовки.

8 Проведение иммуноферментного анализа

8.1 Общие положения

8.1.1 Замена компонентов набора реагентов на реагенты из тест-систем других партий не допускается.

8.1.2 Окрашивание раствора хромогена (см. приложение А) является признаком порчи и делает невозможным его применение для анализа.

8.1.3 На всех стадиях проведения анализа необходимо избегать воздействия прямого солнечного света.

8.1.4 Для каждого реактива и раствора используют отдельные съемные наконечники пипеточных дозаторов переменной вместимости. Внесение растворов в лунки проводят осторожно, не касаясь наконечниками их дна и стенок.

8.1.5 Каждый раствор экстрактов проб (см. 7.4) и рабочие градуировочные растворы (см. 7.2.6.2) анализируют в двух повторностях (для каждой пробы проводят два параллельных анализа, одновременно подвергнутых процедуре подготовки по 7.4).

8.2 Подготовка тест-системы к проведению анализа

8.2.1 Перед использованием тест-систему вынимают из холодильника и выдерживают не менее 30 мин при температуре от 18 °С до 25 °С.

8.2.2 Оставшиеся стрипы* планшета незамедлительно помещают в оригинальную упаковку, закрывают и убирают в холодильник.

Примечание — Приведены расходы реактивов на три стрипа, что достаточно для анализа четырех проб. Для другого числа проб количество используемых стрипов и смешиваемых объемов реагентов изменяют в соответствии с количеством анализируемых проб.

8.3 Проведение анализа

8.3.1 Из планшета извлекают необходимое число стрипов. Неиспользованные стрипы тщательно заклеивают пленкой для заклеивания планшетов и хранят в закрытом фольгированном полиэтиленовом пакете с зип-локом** при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности тест-системы.

8.3.2 В лунки планшета вносят по 0,05 см^3 рабочих градуировочных растворов K_0—K_5 (см. 7.2.6.2) и растворов анализируемых проб.

Каждый раствор вносят в двойной повторности (лунки-дубли).

Внесение растворов проводят согласно приложению Б.

Далее в каждую лунку вносят по 0,05 см^3 рабочего раствора ФК (см. 7.2.8). Содержимое лунок аккуратно перемешивают постукиванием по ребру планшета. Стрипы заклеивают пленкой или закрывают крышкой, инкубируют при температуре от 18 °С до 25 °С в течение 1 ч в защищенном от света месте, после чего содержимое лунок сливают.

8.3.3 В лунки планшета вносят по 0,2 см^3 раствора ОТ (см. 7.2.7), оставляют на 1—2 мин и сливают, удаляют остатки жидкости путем легкого постукивания рамки с лунками по поверхности стола, накрытого листом сухой фильтровальной бумаги. Процедуру промывания повторяют еще два раза.

8.3.4 В лунки планшета вносят по 0,1 см^3 раствора РС (см. 7.2.9), аккуратно перемешивают легким постукиванием по ребру планшета и инкубируют в темноте при температуре от 18 °С до 25 °С в течение 15 мин.

---

* Стрип — полоска из восьми лунок.

** Зип-лок — замок, обеспечивающий герметизацию пакета.

8.3.5 Добавляют по 0,1 см^3 стоп-реагента № 6 (см. приложение А), аккуратно перемешивают легким постукиванием по ребру планшета.

8.3.6 Помещают планшет в иммуноферментный анализатор и измеряют значения ОП при длине волны 450 нм. Измерение необходимо провести в течение 30 мин после добавления стоп-реагента № 6. Значения допускаемого относительного расхождения между двумя измерениями ОП экстрактов анализируемых проб и рабочих градуировочных растворов не должно превышать 10 %.

9 Обработка результатов измерения

9.1 По показателям ОП в лунках-дублях находят среднеарифметические значения. Разность значений ОП для них в процентах от среднего не должна превышать 10.

Связывание АТ (или относительное поглощение) П, %, вычисляют по формуле

$$П = \frac{ОП_к}{ОП_0} \cdot 100, \quad (1)$$

где $ОП_к$ — среднее значение ОП, измеренной в лунках с градуировочными растворами линкомицина K_5—K_1 или экстрактами анализируемых проб;

$ОП_0$ — среднее значение ОП, измеренной в лунках с градуировочным раствором K_0 (см. приложение Б).

По значениям относительного поглощения, вычисленным для градуировочных растворов и соответствующим известным значениям массовой доли линкомицина, нг/см^3, строят градуировочный график в полулогарифмической системе координат.

9.2 Обработку результатов измерения проводят с помощью программного обеспечения, позволяющего определить массовую долю линкозамидов в анализируемой пробе. Полученный график характеризуют линейной зависимостью. Градуировочная зависимость считается приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение коэффициента корреляции составляет не менее 0,98.

9.3 Возможно проведение вычислений с построением линейного графика на масштабно-координатной бумаге с использованием логарифмической оси абсцисс и линейной оси ординат. На оси абсцисс откладывают значения десятичных логарифмов концентрации линкомицина в рабочих разведениях градуировочных растворов K_5—K_1, по оси ординат — значения относительного поглощения и строят график с использованием линейной зависимости. С помощью градуировочного графика, полученного для растворов экстрактов анализируемых проб, находят логарифм массовой концентрации линкозамидов. С помощью калькулятора вычисляют его обратное значение (антилогарифм), соответствующее концентрации определяемого содержания линкозамидов в анализируемой пробе.

9.4 Массовую долю линкозамидов в анализируемой пробе C, мкг/кг, вычисляют по формуле

$$C = c \cdot R, \quad (2)$$

где c — массовая концентрация линкозамидов в экстракте анализируемой пробы, определяемая по градуировочному графику, мкг/дм^3;

R — коэффициент пересчета мкг/дм^3 в экстракте анализируемой пробы в мкг/кг, учитывающий разведение.

9.5 За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 - X_2)} \le r, \quad (3)$$

где X_1, X_2 — результаты параллельных определений массовой доли линкозамидов, мкг/кг;

r — значение предела повторяемости (см. таблицу 2), %.

9.6 Результаты измерений массовой доли линкозамидов X, мкг/кг, округляют до первого десятичного знака.

9.7 Если условие (3) не выполняется, получают еще два результата в полном соответствии с данным методом измерений. За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие

$$\frac{4 \cdot \left| X_{макс} - X_{мин} \right| \cdot 100}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)} \le CR_{0,95}, \quad (4)$$

где $X_{макс}$, $X_{мин}$ — максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой доли линкозамидов, мкг/кг;

$CR_{0,95}$ — значение критического диапазона для уровня вероятности $P = 0,95$, вычисляемое по формуле

$$CR_{0,95} = f(n) \cdot \sigma_r, \quad (5)$$

для $n = 4$

$$CR_{0,95} = 3,6 \cdot \sigma_r, \quad (6)$$

где σ_r — показатель повторяемости (см. таблицу 2), %;

n — число результатов определений.

9.8 Если условие (4) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

9.9 Если массовая доля линкозамидов менее нижней границы диапазона измерений, в журнале приводят запись следующего вида с учетом границы диапазона измерений для конкретной пробы: «Массовая доля линкозамидов менее 4 мкг/кг» для молока, молочных продуктов, яиц и «Массовая доля линкозамидов менее 40 мкг/кг» для мяса, субпродуктов, меда.

Признаком положительного результата (обнаружения линкозамидов) является получение окончательного результата измерений, отличного от «менее 4 мкг/кг» для молока, молочных продуктов, яиц и от «менее 40 мкг/кг» для мяса, субпродуктов, меда. При этом образец должен быть отправлен на анализ подтверждающим методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии.

10 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений массовой доли линкозамидов с расширенной неопределенностью результатов измерений при коэффициенте охвата $k = 2$ и доверительной вероятности $P = 0,95$ и показателями точности, указанными в таблицах 2—4.

Таблица 2 — Показатели точности метода при определении массовой доли линкозамидов в молоке, молочных продуктах, яйцах

Наименование аналита	Диапазон измерений, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i,%, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Линкомицин	От 4 до 400 включ.	57	9	25	25

Таблица 3 — Показатели точности метода при определении массовой доли линкозамидов в мясе и субпродуктах

Наименование аналита	Диапазон измерений, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i,%, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Линкомицин	От 40 до 4000 включ.	37	5	12	14

Таблица 4 — Показатели точности метода при определении массовой доли линкомицина в меде

Наименование аналита	Диапазон измерений, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i,%, при коэффициенте охвата k = 2	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Линкомицин	От 40 до 4000 включ.	45	7	21	19

11 Контроль точности результатов измерения

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) и воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (раздел 5).

12 Контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости с применением карт Шухарта

Контроль качества результатов измерений при реализации метода в лаборатории осуществляют по ГОСТ ИСО 5725-6, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункт 6.2.2) и показателя правильности по ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункт 6.2.4). Проверку стабильности рекомендуется осуществлять с применением контрольных карт Шухарта по ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункт 6.2.3).

Приложение А
(обязательное)

Тест-система «Линкозамиды — ИФА»

В тест-систему входят:

- планшет 96-луночный (12 стрипов с 8 отделяемыми лунками каждый) для количественного определения линкомицина и клиндамицина по технологии ИФА, покрытый поликлональными антителами к линкомицину;
- пакет полиэтиленовый фольгированный с зип-локом;
- пленка полиэтиленовая самоклеящаяся для заклеивания планшетов;

Растворы:

№ 1 — буфер для промывания (25-кратный концентрат), содержащий раствор натрия гидрофосфата дигидрата молярной концентрации 0,2 моль/дм^3, раствор натрия дигидрофосфата дигидрата молярной концентрации 0,057 моль/дм^3, раствор натрия хлорида молярной концентрации 3,6 моль/дм^3 и 5 % Твин-20;

№ 2 — стандартный раствор линкомицина в метаноле, содержащий 1 мг линкомицина в 1 см^3 метанола;

№ 3 — конъюгат линкомицина с пероксидазой хрена (10-кратный концентрат);

№ 4 — готовый раствор субстрата — раствор перекиси водорода молярной концентрации 0,0028 моль/дм^3 в водном растворе лимонной кислоты молярной концентрации 0,0312 моль/дм^3;

№ 5 — готовый раствор хромогена — раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина молярной концентрации 0,005 моль/дм^3 в смеси диметилсульфоксид: деионизованная вода (7:3);

№ 6 — стоп-реагент — водный раствор серной кислоты молярной концентрации 0,5 моль/дм^3.

Приложение Б
(рекомендуемое)

Схема заполнения лунок планшета

Внесение реагентов следует проводить согласно нижеприведенной схеме

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	K_0	K_0	№ 1	№ 1	№ 9	№ 9	№ 17	№ 17	№ 25	№ 25	№ 33	№ 33
B	K_0	K_0	№ 2	№ 2	№ 10	№ 10	№ 18	№ 18	№ 26	№ 26	№ 34	№ 34
C	K_1	K_1	№ 3	№ 3	№ 11	№ 11	№ 19	№ 19	№ 27	№ 27	№ 35	№ 35
D	K_2	K_2	№ 4	№ 4	№ 12	№ 12	№ 20	№ 20	№ 28	№ 28	№ 36	№ 36
E	K_3	K_3	№ 5	№ 5	№ 13	№ 13	№ 21	№ 21	№ 29	№ 29	№ 37	№ 37
F	K_4	K_4	№ 6	№ 6	№ 14	№ 14	№ 22	№ 22	№ 30	№ 30	№ 38	№ 38
G	K_5	K_5	№ 7	№ 7	№ 15	№ 15	№ 23	№ 23	№ 31	№ 31	№ 39	№ 39
H	K_5	K_5	№ 8	№ 8	№ 16	№ 16	№ 24	№ 24	№ 32	№ 32	№ 40	№ 40

Примечание — Для увеличения точности нулевой калибратор K_0 и калибратор с максимальным содержанием K_5 вносят не в двух повторностях, а в четырех.

УДК 664:637.07:614.3:006.354

ОКС 67.050
67.100
67.120.10
67.120.20
67.180.10

Ключевые слова: пищевые продукты, продовольственное сырье, линкозамиды, линкомицин, клиндамицин, остаточное содержание, иммунохимический метод, тест-система, относительное поглощение, ферментный конъюгат

БЗ 11—2020

Редактор *Л.С. Зимилова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *М.В. Лебедевой*

Сдано в набор 08.10.2020. Подписано в печать 20.10.2020. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ 34677—2020 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания линкозамидов

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Украина	UA	Минэкономразвития Украины

(ИУС № 2 2021 г.)

Поправка к ГОСТ 34677—2020 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Иммуноферментный метод определения остаточного содержания линкозамидов

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения

(ИУС № 1 2024 г.)

gost.e-ecolog.ru