ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54414— 2011

РЫБА И ПРОДУКЦИЯ ИЗ НЕЕ

Видовая идентификация рыбы методом электрофореза с додецилсульфатом натрия в полиакриламидном геле

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Открытым акционерным обществом «Научно-исследовательский и проектно-конструкторский институт по развитию и эксплуатации флота» (ОАО «Гипрорыбфлот»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 299 «Консервы и пресервы из рыбы и нерыбных объектов, тара, методы контроля»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 сентября 2011 г. № 334-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© Стандартинформ, 2013

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Сущность метода 2
5 Требования к оборудованию, материалам и реактивам 2
6 Отбор проб 3
7 Приготовление растворов 3
8 Референс-образцы 4
9 Проведение анализа 5
10 Обработка результатов анализа 6
11 Условия проведения измерений 7
12 Требования безопасности 7
Приложение А (рекомендуемое) Результаты проведения анализа и компьютерной обработки полученных данных при определении вида рыбы в образце рыбных палочек 8
Приложение Б (рекомендуемое) Результаты проведения анализа и компьютерной обработки полученных данных при определении вида рыбы в анализируемом образце 11
Приложение В (рекомендуемое) Форма протокола испытаний 14

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РЫБА И ПРОДУКЦИЯ ИЗ НЕЕ

Видовая идентификация рыбы методом электрофореза с додецилсульфатом натрия в полиакриламидном геле

Fish and products from it. Species identification of fish by electrophoresis with sodium dodecyl sulphate in polyacrylamide gel method

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на отварную, копченую, соленую продукцию с массовой долей поваренной соли не более 5,5 % и фаршевые изделия из рыбы, а также рыбу-сырец, охлажденную, мороженую, используемую для приготовления этой продукции, и устанавливает метод электрофореза с додецилсульфатом натрия в полиакриламидном геле (далее — SDS-электрофорез) для видовой идентификации рыбы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ Р 52840—2007 Рыба и продукция из нее. Видовая идентификация рыбы методом изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле.

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть первая. Метрологические и технические требования.

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

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 83—79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 244—76 Натрия тиосульфат кристаллический. Технические условия

ГОСТ 1277—75 Реактивы. Серебро азотнокислое. Технические условия

ГОСТ 1625—89 Формалин технический. Технические условия

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

Издание официальное

ГОСТ 6259—75 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 19814—74 Кислота уксусная синтетическая и регенерированная. Технические условия

ГОСТ 26678—85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 31339—2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб

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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. 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 **SDS-электрофорез:** Метод электрофоретического разделения белков в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия.

3.2 **маркерные белки:** Основные белки, характерные (видоспецифичные) для каждого вида анализируемого объекта.

[ГОСТ Р 52840—2007, статья 3.2]

3.3 **стандартные белки:** Белки с известной молекулярной массой (ММ).

3.4 **референс-образец:** Образец продукции, используемый в качестве стандарта при оценке результатов идентификации.

4 Сущность метода

Метод основан на видовой специфичности белков мышечной ткани рыб и заключается в переводе белков исследуемого образца в раствор с помощью додецилсульфата натрия и дальнейшем разделении белковых молекул в соответствии с их молекулярной массой в градиентном полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия. Идентификацию проводят путем сравнения картин электрофоретического распределения белковых фракций анализируемого образца с соответствующим референс-образцом.

5 Требования к оборудованию, материалам и реактивам

Для проведения анализа используют следующее оборудование, материалы и реактивы:

- универсальную модульную автоматизированную систему для разделения белков с использованием готовых гелевых сред в программируемом режиме и автоматической обработкой гелей (фиксация, окрашивание, отмывка), с контролем условий разделения (температуры, параметров тока) со следующими программными параметрами: напряжение от 10 до 2000 В, сила тока от 0,1 до 50,0 мА, мощность 7,0 Вт, температура от 0 °С до 70 °С или иное электрофоретическое оборудование для разделения белков методом SDS-электрофореза (далее — система);
- центрифугу рефрижераторную с частотой вращения не менее 12000 $мин^{-1}$;
- pH-метр — милливольтметр лабораторный pH — 673 М;
- пробирки центрифужные вместимостью 10 $см^3$;
- аппликатор с капиллярными отверстиями объемом 1 мкл для внесения образцов в гель;

- микродозатор с переменным объемом дозирования: от 0,5 до 10,0 мм^3 (шаг — 0,1 мм^3, точность ± (1,5 – 5,0) %, воспроизводимость от 1,0 % до 5,0 %);
- наконечники для микродозаторов (микропипеток) с переменным объемом дозирования жидкостей;
- ступку фарфоровую по ГОСТ 9147;
- штамп для образца с лунками вместимостью не менее 1,5 мкл;
- весы неавтоматического действия II класса точности с допускаемой погрешностью взвешивания не более ± 0,001 г по ГОСТ Р 53228;
- холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда по ГОСТ 26678;
- колбы стеклянные мерные 2-50-2, 2-100-2 и 2-1000-2 по ГОСТ 1770;
- цилиндры стеклянные мерные лабораторные 1-50-2, 1-100-2 по ГОСТ 1770;
- пипетки стеклянные 1-1-2-5, 1-1-2-10 по ГОСТ 29227;
- полоски буферные из агарозы;
- гели градиентные полиакриламидные с додецилсульфатом натрия, 10 %—15 %;
- пленку парафиновую;
- бумагу фильтровальную лабораторную по ГОСТ 12026;
- кислоту уксусную по ГОСТ 19814, х. ч.;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652, х. ч.;
- глицерин по ГОСТ 6259, ч. д. а.;
- 2-меркаптоэтанол, ч. д. а;
- додецилсульфат натрия, х. ч.;
- краситель бромфеноловый синий, ч. д. а;
- краситель кумасси R 250, ч. д. а;
- *трис*(гидроксиметил)аминометан гидрохлорид, х. ч.;
- *трис*(гидроксиметил)аминометан, х. ч.;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- альдегид глутаровый с содержанием основного компонента не менее 25 %;
- серебро азотнокислое по ГОСТ 1277;
- натрий углекислый 12,5 %-ный;
- натрия тиосульфат кристаллический по ГОСТ 244;
- формальдегид 37 %-ный по ГОСТ 1625;
- набор стандартных белков для градуировки с известными молекулярными массами в диапазоне от 14400 до 97000 а. е. м.

Допускается использование других средств измерений и вспомогательного оборудования по метрологическим, техническим характеристикам и качеству не ниже указанных в настоящем стандарте.

Допускается использование других реактивов, в том числе импортных, по качеству и чистоте не ниже вышеуказанных.

6 Отбор проб

Отбор проб проводят по ГОСТ 31339.

7 Приготовление растворов

7.1 Экстрагирующий раствор

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 2 г додецилсульфата натрия и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.2 Буферный раствор

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 5 см^3 водного раствора *трис*-буфера по 7.2.1, добавляют 4 см^3 глицерина, 8 см^3 10 %-ного водного раствора додецилсульфата натрия, 2 см^3 2-меркаптоэтанола и 2 см^3 0,1 %-ного водного раствора бромфенолового синего.

7.2.1 Приготовление водного раствора *трис*-буфера: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 3 см^3 раствора *трис*(гидроксиметил)аминометана молярной концентрацией 0,5 моль/дм^3 и доводят

объем до метки водным раствором *трис*(гидроксиметил)аминометан гидрохлорида молярной концентрацией 0,5 моль/дм^3. Значение pH водного раствора *трис*-буфера должно составлять 6,8 ± 0,01.

7.2.1.1 Приготовление водного раствора *трис*(гидроксиметил)аминометан гидрохлорида молярной концентрацией 0,5 моль/дм^3: в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 78,5 г *трис*(гидроксиметил)аминометан гидрохлорида и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.2.1.2 Приготовление водного раствора *трис*(гидроксиметил)аминометана молярной концентрацией 0,5 моль/дм^3: в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 60,5 г *трис*(гидроксиметил)аминометана и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.2.2 Приготовление 10 %-ного водного раствора додецилсульфата натрия: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 10 г додецилсульфата натрия и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.2.3 Приготовление 0,1 %-ного водного раствора бромфенолового синего: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,1 г бромфенолового синего и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.3 Растворы для обработки гелей при окрашивании раствором кумасси

7.3.1 Приготовление промывного раствора: в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 300 см^3 96 %-ного этилового спирта, добавляют 600 см^3 дистиллированной воды и 100 см^3 уксусной кислоты.

7.3.2 Окрашивающий раствор состоит из основного и рабочего.

7.3.2.1 Приготовление основного раствора: в мерную колбу вместимостью 300 см^3 помещают 0,4 г кумасси, добавляют 80 см^3 дистиллированной воды и перемешивают в течение 5—10 мин. Добавляют 120 см^3 96 %-ного этилового спирта и перемешивают еще 2 мин.

7.3.2.2 Приготовление рабочего раствора: в мерной колбе вместимостью не менее 100 см^3 смешивают 50 см^3 основного раствора с 50 см^3 раствора 20 %-ной уксусной кислоты.

7.3.2.3 Приготовление раствора 20 %-ной уксусной кислоты: 20 см^3 уксусной кислоты растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 100 см^3 и доводят до метки.

7.3.3 Приготовление консервирующего раствора: в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 40 см^3 глицерина, 40 см^3 уксусной кислоты и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.4 Растворы для обработки гелей при окрашивании серебром

7.4.1 Приготовление промывного раствора: в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 100 см^3 96 %-ного этилового спирта, добавляют 850 см^3 дистиллированной воды и 50 см^3 уксусной кислоты.

7.4.2 Приготовление окрашивающего раствора: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят (0,15 ± 0,001) г азотнокислого серебра и доводят объем дистиллированной водой до метки.

7.4.3 Приготовление раствора, усиливающего окраску: в мерной колбе вместимостью 100 см^3 смешивают 30 см^3 25 %-ного глутарового альдегида и 60 см^3 дистиллированной воды.

7.4.4 Приготовление раствора, развивающего окраску: в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 200 см^3 12,5 %-ного раствора углекислого натрия, 800 см^3 дистиллированной воды и 0,4 см^3 37 %-ного формальдегида.

7.4.5 Приготовление раствора, останавливающего окраску: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят (1,60 ± 0,01) г тиосульфата натрия и (3,70 ± 0,01) г *трис*(гидроксиметил)аминометан гидрохлорида и доводят объем дистиллированной водой до метки.

7.4.6 Приготовление консервирующего раствора: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 10 см^3 глицерина и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.5 Растворы могут храниться в течение месяца при комнатной температуре. Рабочий раствор готовят в день использования.

8 Референс-образцы

В качестве референс-образца для видовой идентификации рыбы, в том числе в составе рыбной продукции, в соответствии с областью применения настоящего стандарта могут быть использованы: соответствующий образец рыбы-сырца (для однокомпонентных продуктов) или образец, приготовленный по технологии аналогичной технологии изготовления анализируемого образца (для одно- и многокомпонентных продуктов).

9 Проведение анализа

9.1 Подготовка образцов к анализу

Пробы анализируемого образца и референс-образца готовят в идентичных условиях.

9.1.1 Мышечную ткань анализируемого образца массой не менее 1 г измельчают в ступке.

9.1.2 Пробу анализируемую образца по 9.1.1 отбирают массой (0,50 ± 0,01) г в центрифужные пробирки вместимостью 10 $см^3$ и заливают 2 $см^3$ 2 %-ного водного раствора додецилсульфата натрия по 7.1, смесь периодически перемешивают в течение 30 мин.

9.1.3 Смесь, полученную по 9.1.2, центрифугируют при частоте вращения 12000 $мин^{-1}$ при температуре 20 °С в течение 15 мин.

9.1.4 Надосадочную жидкость, полученную по 9.1.3, фильтруют через бумажный фильтр и отбирают в стеклянные пробирки вместимостью 10 $см^3$ по 0,25 $см^3$ фильтрата.

9.1.5 К раствору, полученному по 9.1.4, добавляют 1,5 $см^3$ буферного раствора, приготовленного по 7.2, и нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры, при необходимости фильтруют и используют для проведения электрофореза.

9.2 Приготовление раствора стандартных белков

9.2.1 Набор стандартных белков для градуировки с известной молекулярной массой растворяют в 1,5 $см^3$ буферного раствора, приготовленного по 7.2, и нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры и используют для проведения электрофореза.

9.2.1.1 Для видовой идентификации рыбы методом SDS-электрофореза используется набор стандартных белков для градуировки с молекулярной массой от 14400 до 97000 а. е. м. промышленного производства в виде сухой замороженной смеси.

9.2.1.2 Для автоматизированной разделительной системы используется набор белков с общей массой 100 мкг:

- фосфорилаза Б с молекулярной массой 97000 а. е. м.;
- альбумин с молекулярной массой 66000 а. е. м.;
- овальбумин с молекулярной массой 45000 а. е. м.;
- карбоангидраза с молекулярной массой 30000 а. е. м.;
- ингибитор трипсина с молекулярной массой 20100 а. е. м.;
- альфа-лактальбумин с молекулярной массой 14400 а. е. м.

9.3 Проведение SDS-электрофореза

9.3.1 Полиакриламидный гель помещают в систему в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

9.3.2 Вставляют буферные полоски в отделения держателя буферных полосок: одну — в отделение катода и одну — в отделение анода.

9.3.3 Электроды устанавливают в верхнем положении.

9.3.4 Формируют лунки в парафиновой пленке с помощью штампа: штамп с лунками, обращенными вверх, кладут на стол, накрывают парафиновой пленкой защитным слоем вверх (по направлению линий отверстий), в парафиновой пленке, двигаясь вдоль линии лунок, делают углубления при помощи стеклянной палочки, а затем снимают защитный слой.

9.3.5 Растворы, т. е. раствор анализируемого образца и аналогично приготовленный раствор референс-образца, полученные по 9.1.5, а также раствор стандартных белков для градуировки с известной молекулярной массой, приготовленный по 9.2, вносят микродозатором в каждую лунку 1,5 мкл.

9.3.6 Аппликатор опускают на поверхность растворов (стандартных белков для градуировки, анализируемого образца и референс-образцов), помещенных в лунки по 9.3.5, сформированные в парафиновой пленке с помощью штампа по 9.3.4, нарушая поверхность капель для заполнения капилляров.

9.3.7 Аппликатор, наполненный образцами по 9.3.6, помещают в систему со стороны катода и проводят электрофорез в автоматическом режиме в соответствии с инструкцией к системе.

Условия разделения: напряжение 220 В, ток 10 мА, мощность 2,5 Вт, температура 15 °С. Когда разделение закончено, гель вынимают и переносят в камеру окрашивания. Окончанием разделения служит звуковой сигнал, подаваемый системой.

9.4 Проведение окрашивания

Полиакриламидные гели окрашивают в автоматическом режиме с применением кумасси в соответствии с таблицей 1 или азотнокислого серебра в соответствии с таблицей 2.

Таблица 1 — Программа окрашивания полиакриламидных гелей с помощью раствора кумасси

Номер этапа	Наименование раствора	Время, мин	Температура, °С
1	Окрашивающий	8	50
2	Промывной	5	
3	Промывной	8	
4	Промывной	10	
5	Консервирующий	5	

Таблица 2 — Программа окрашивания полиакриламидных гелей с помощью раствора азотнокислого серебра

Номер этапа	Наименование	Время, мин	Температура, °С
1	Промывной раствор	2,0	50
2	Промывной раствор	4,0	
3	Усиливающий окраску раствор	6,0	
4	Промывной раствор	3,0	
5	Промывной раствор	5,0	
6	Дистиллированная вода	2,0	
7	Дистиллированная вода	2,0	
8	Окрашивающий раствор	13	40
9	Дистиллированная вода	0,5	30
10	Дистиллированная вода	0,5	
11	Развивающий окраску раствор	0,5	
12	Развивающий окраску раствор	4,0	
13	Останавливающий окраску раствор	2,0	50
14	Консервирующий раствор	5,0	

Процесс окрашивания занимает от 30 до 50 мин. Затем полиакриламидные гели вынимают из системы и высушивают при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 4 ч.

10 Обработка результатов анализа

10.1 Полученную картину электрофоретического распределения белковых фракций анализируемой пробы сравнивают с картиной распределения белковых фракций референс-образца.

10.2 Строят графическую зависимость значений молекулярных масс стандартных белков от расстояния каждой белковой фракции до катода.

10.3 Измеряют расстояние от катода до локализации белков анализируемого образца и референс-образца и с помощью калибровочного графика, построенного по 10.2, находят соответствующие значения молекулярных масс белков. Графическое построение и определение молекулярных масс может осуществляться или с помощью компьютерной программы после переноса изображения распределения белковых фракций с полиакриламидного геля на монитор компьютера с использованием систем видеодокументирования, или ручным способом путем измерений расстояний с помощью линейки от катода до каждой белковой фракции.

10.4 Совпадение картин распределения белковых фракций и совпадение значений молекулярных масс маркерных белков анализируемого образца и референс-образцов свидетельствует об их

идентичности и подтверждает правильность заявленного наименования анализируемого образца. Примеры результатов анализа и их компьютерной обработки для разных видов анализируемых объектов приведены в приложениях А и Б.

10.5 Для подтверждения результатов идентификации проводят параллельное разделение белков как из одной пробы, так и из идентичных проб, полученных из двух-трех образцов анализируемого объекта.

10.6 Результаты анализа оформляют в виде протокола. Образец протокола приведен в приложении В.

11 Условия проведения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха (22 ± 5) °С;
- атмосферное давление от 84,0 до 106,7 кПа;
- влажность воздуха не более 80 % при 25 °С;
- напряжение в сети (220 ± 10) В;
- частота переменного тока в сети питания (50 ± 1) Гц.

12 Требования безопасности

12.1 При выполнении работ с химическими реактивами необходимо соблюдать требования техники безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007.

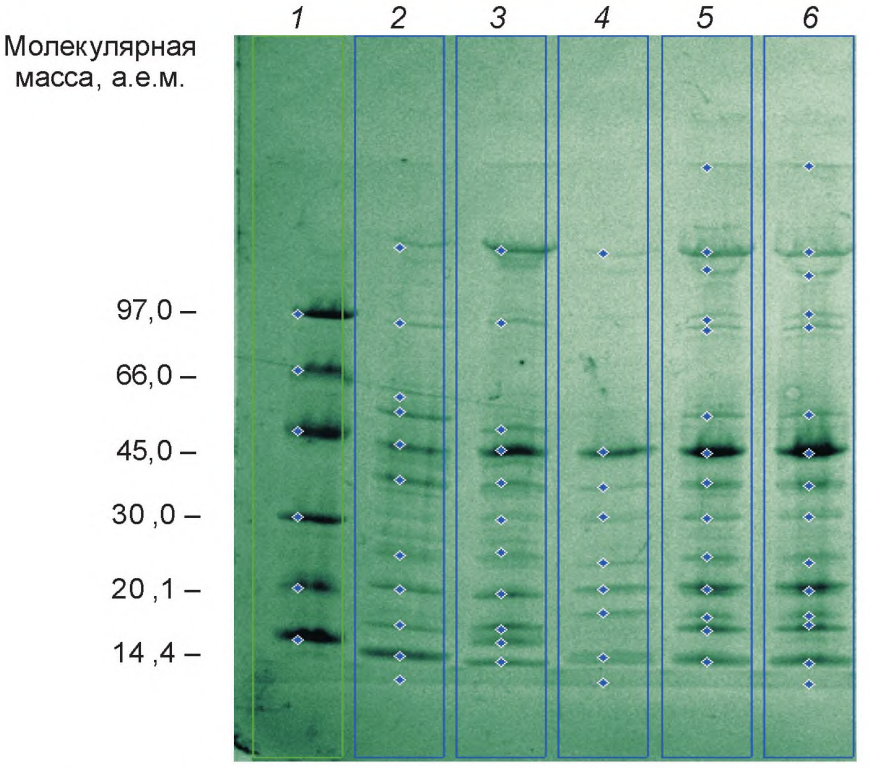
12.2 Помещение, в котором проводятся работы, должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

12.3 При работе с электроустановками электробезопасность должна соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.019. Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

Приложение А
(рекомендуемое)

Результаты проведения анализа и компьютерной обработки полученных данных при определении вида рыбы в образце рыбных палочек

А.1 Пример картины распределения белковых фракций на электрофореграмме приведен на рисунке А.1 (разделение и окрашивание белков на геле было проведено на системе PhastSystem, перенос изображения на компьютер и обработка данных были проведены с помощью системы видеодокументирования ImageMaster VDS и компьютерной программы ImageMaster 1D).



1 — набор стандартных белков для градуировки; *2* — референс-образец рыбных палочек из налима; *3* — референс-образец рыбных палочек из камбалы; *4*, *5* — референс-образец рыбных палочек из путассу; *6* — анализируемый образец рыбных палочек

Рисунок А.1

А.2 График, полученный в результате компьютерной обработки электрофореграммы набора стандартных белков для градиентного геля 10 %—15 %, приведен на рисунке А.2.

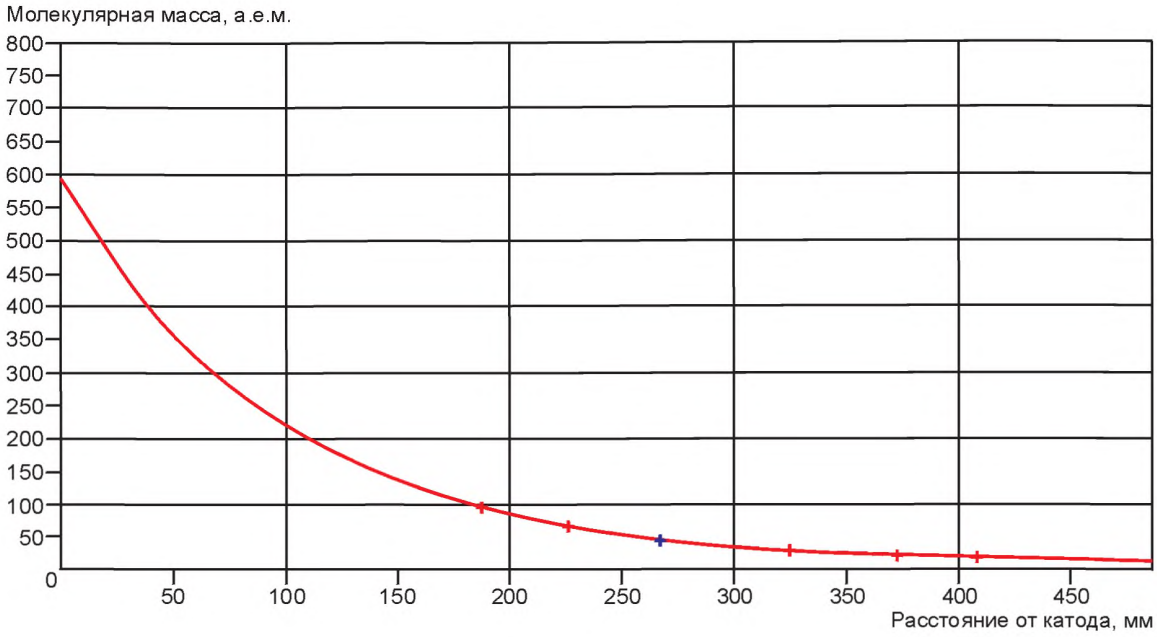


Рисунок А.2

А.3 Пример компьютерной обработки электрофореграмм при анализе значений молекулярных масс белков анализируемого образца и референс-образцов приведен в таблице А.1.

Таблица А.1 — Молекулярная масса ММ маркерных белков анализируемого образца и референс-образцов

В а. е. м.

Молекулярная масса анализируемого образца			Молекулярная масса референс-образцов рыбных палочек		
1-я проба	2-я проба	Среднее значение ММ	из налима	из камбалы	из путассу
247,5	247,3	247,4 ± 0,01	643,3	239,0	249,8
141,1	141,1	141,1	149,4	138,1	141,1
82,6	82,8	82,7 ± 0,01	87,1	90,4	86,4
50,0	49,5	49,7 ± 0,03	48,7	55,1	49,7
39,9	39,9	39,9	40,9	47,0	39,9
33,5	33,9	33,7 ± 0,02	34,0	34,2	33,7
27,9	27,6	27,7 ± 0,02	28,2	28,9	27,9
22,5	22,9	22,7 ± 0,02	23,25	25,1	22,1
19,4	19,4	19,4	—	23,1	19,3
17,0	17,2	17,1 ± 0,01	16,0	14,5	17,2

А.4 Обобщение результатов анализа для определения вида рыбы в анализируемом образце рыбных палочек — по рисункам А.1, А.2 и таблице А.1.

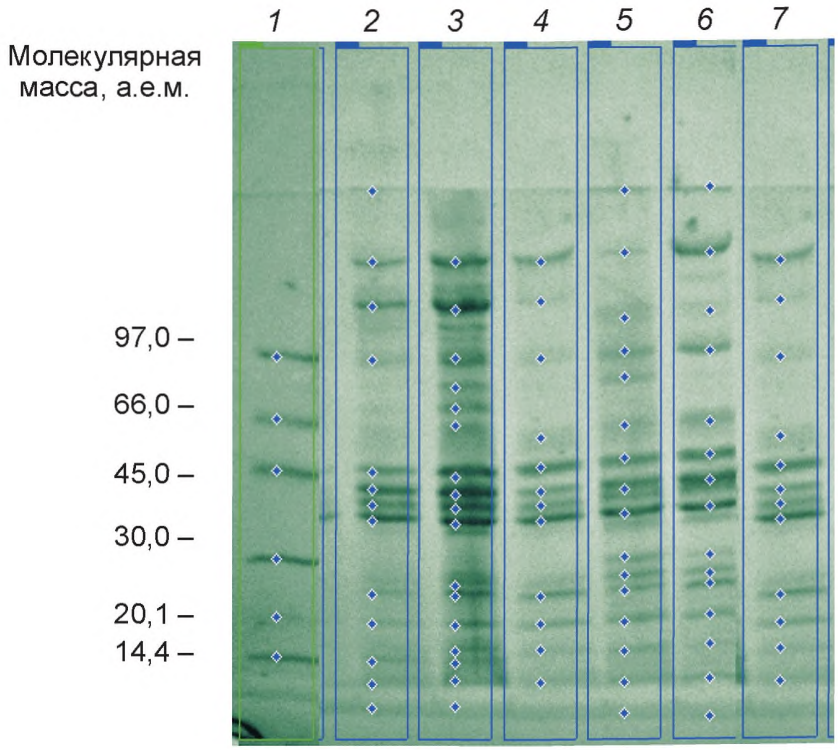
А.4.1 В результате SDS-электрофореза выделенных белков мышечной ткани референс-образцов из разных видов рыб получены отличающиеся друг от друга картины распределения белковых фракций.

А.4.2 У анализируемого образца распределение маркерных белков и значения молекулярных масс совпадают с локализацией основных белков референс-образца из путассу и их значениями ММ. Таким образом, можно сделать вывод, что анализируемый образец рыбных палочек приготовлен из путассу.

Приложение Б
(рекомендуемое)

Результаты проведения анализа и компьютерной обработки полученных данных при определении вида рыбы в анализируемом образце

Б.1 Пример картины распределения белковых фракций на электрофореграмме приведен на рисунке Б.1 (разделение и окрашивание белков на геле было проведено на системе PhastSystem, перенос изображения на компьютер и обработка были проведены с помощью системы видеодокументирования ImageMaster VDS и компьютерной программы ImageMaster).



1 — набор стандартных белков для градуировки; *2* — референс-образец горбуши отварной; *3* — референс-образец горбуши-сырца; *4*, *7* — анализируемый образец отварной рыбы; *5* — референс-образец семги отварной; *6* — референс-образец семги-сырца

Рисунок Б.1

Б.2 График, полученный в результате компьютерной обработки электрофореграммы набора стандартных белков для градиентного геля 10 %—15 %, приведен на рисунке Б.2.

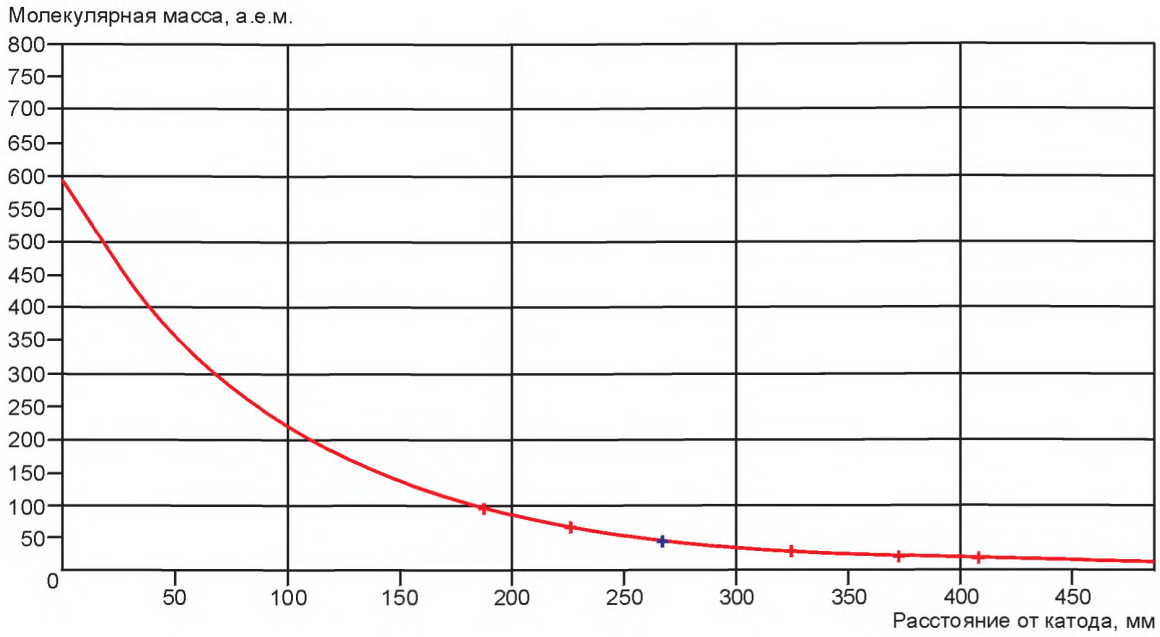


Рисунок Б.2

Б.3 Пример компьютерной обработки электрофореграмм при анализе значений молекулярных масс белков анализируемого образца и референс-образцов приведен в таблице Б.1.

Таблица Б.1 — Молекулярная масса ММ маркерных белков анализируемого образца и референс-образцов

В а. е. м.

Анализируемый образец			Референс-образцы			
1-я проба	2-я проба	Среднее значение ММ	из семги		из горбуши	
			отварной	сырца	отварной	сырца
—	—	—	—	—	50,53	51,60
41,39	41,29	41,34	41,54	41,83	44,08	44,39
38,08	38,00	38,04	37,29	38,03	36,14	36,68
34,67	34,70	34,69	33,96	34,67	—	—
22,07	22,20	22,14	22,07	22,29	24,93	25,19
—	—	—	—	—	13,43	13,69

Б.4 Обобщение результатов анализа для определения вида анализируемого образца — по рисункам Б.1, Б.2 и таблице Б.1.

Б.4.1 В результате SDS-электрофореза выделенных белков мышечной ткани референс-образцов из двух видов рыб видно, что у горбуши (так же, как и у семги) локализация маркерных белков и значение их молекулярных масс для рыбы-сырца и отварного образца совпадают.

Б.4.2 У анализируемого образца распределение маркерных белков и значения их молекулярных масс полностью совпадают с локализацией основных белков и значениями их молекулярных масс референс-образцов из горбуши-сырца и в отварном виде. Таким образом, можно сделать вывод, что анализируемый образец отварной рыбы приготовлен из горбуши.

В качестве референс-образца могут быть использованы как рыба-сырец, так и отварная рыба.

Приложение В
(рекомендуемое)

Форма протокола испытаний

Наименование организации (испытательной лаборатории)
ПРОТОКОЛ ИСПЫТАНИЙ

№_____ от «___»_____20__г.

Даты: поступления на испытание: «___»_____20__г.
конца испытаний: «___»_____20__г.

Продукция _____

Производитель сырья или продукции _____

Предъявитель сырья или продукции _____

Отбор образцов проведен _____

Акт отбора образцов и техническое задание на испытания № _____ от «___» _____20__г.

Испытания проведены на основании требований _____

Номер образца _____

Характеристика анализируемого образца (вид и состояние упаковки, этикетки, штриховка)

_____

Маркировка _____

Годен до _____ Штриховой код _____

Результаты анализа: установлено, что _____
наименование анализируемого образца продукции

_____ идентичен/неидентичен _____
наименование вида

Исполнители:

_____ _____
инициалы, фамилия подпись

_____ _____
инициалы, фамилия подпись

Руководитель испытательной лаборатории

_____ _____
инициалы, фамилия подпись

МП

Заключение распространяется на образец, представленный на испытания.

УДК 576.8.078:006.354 ОКС 67.120.30 Н29 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: сырье, рыбная продукция, видовая идентификация, метод SDS-электрофореза

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 20.03.2013. Подписано в печать 20.04.2013. Формат 60x84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 2,32.
Уч.-изд. л. 1,45. Тираж 158 экз. Зак. 461.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru