

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(ISC)

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
31781—  
2012

---

## РЫБА И ПРОДУКЦИЯ ИЗ НЕЕ

Видовая идентификация рыбы методом  
изоэлектрофокусирования в полиакриламидном  
геле

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2014

## Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

### Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 1 октября 2012 г. № 51)

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  |
| Молдова   | MD                                 | Молдова-Стандарт  |
| Россия  | RU                                 | Росстандарт   |
| Узбекистан  | UZ                                 | Узстандарт  |

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1626-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31781—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 52840—2007

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*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*

© Стандартиформ, 2014

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

## Содержание

|   |    |
|---|----|
| 1 Область применения . . . . .  | 1  |
| 2 Нормативные ссылки . . . . .  | 1  |
| 3 Термины и определения . . . . .   | 2  |
| 4 Сущность метода . . . . .   | 2  |
| 5 Оборудование и материалы . . . . .  | 2  |
| 6 Отбор проб . . . . .  | 3  |
| 7 Подготовка к проведению анализа. Приготовление растворов . . . . .  | 3  |
| 8 Проведение анализа . . . . .  | 4  |
| 9 Обработка результатов анализа . . . . .   | 6  |
| 10 Требования безопасности . . . . .  | 7  |
| Приложение А (справочное) Результаты проведения анализа и компьютерной обработки<br>полученных данных . . . . . | 8  |
| Приложение Б (рекомендуемое) Форма протокола испытаний . . . . .  | 10 |

---

**РЫБА И ПРОДУКЦИЯ ИЗ НЕЕ****Видовая идентификация рыбы методом изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле**

Fish and products from it. Species identification of fish by IEF method

Дата введения — 2013—07—01

**1 Область применения**

Настоящий стандарт распространяется на рыбу-сырец\*, мороженые рыбу, филе рыбы и рыбный фарш, используемые для приготовления пищевой продукции, и устанавливает метод изоэлектрофокусирования (ИЭФ) в полиакриламидном геле для их видовой идентификации.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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 азотнокислородное. 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

ГОСТ 4165—78 Медь (II) сернокислая 5-водная. Технические условия

ГОСТ 5962—67 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6259—75 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7631—85 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний

---

\* Охлажденная (без применения льда и воды).

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия  
ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия  
ГОСТ 12738—77 Колбы стеклянные с градуированной горловиной. Технические условия  
ГОСТ 19814—74 Кислота уксусная синтетическая и регенерированная. Технические условия  
ГОСТ 24104—2001\* Весы лабораторные. Общие технические требования  
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры  
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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по указателю «Национальные стандарты», составленному по состоянию на 1 января текущего года и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты», 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 применяют следующие термины с соответствующими определениями:

**3.1 изоэлектрическая точка белка:** Значение водородного показателя (рН), при котором заряд молекулы белка равен нулю.

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

**3.3 стандартные белки:** Белки с известной изоэлектрической точкой.

**3.4 референс-образец:** Образец рыбы, идентифицированный по морфологическим признакам.

**3.5 саркоплазматические белки:** Белки, входящие в состав саркоплазмы клеток мышечной ткани.

Примечание — На рыбу, отобранную для получения образца, должна быть оформленная декларация о соответствии или сертификат соответствия с указанием ее научного названия (на латинском языке). Образец хранят в герметично упакованном виде при температуре не выше минус 18 °С.

### 4 Сущность метода

Метод основан на видовой специфичности саркоплазматических белков и заключается в разделении молекул белков по их изоэлектрическим точкам в полиакриламидном геле. Идентификация проводится путем сравнения картин распределения белковых полос анализируемого образца с референс-образцом для данного вида.

### 5 Оборудование и материалы

#### 5.1 Оборудование

5.1.1 Универсальная модульная автоматизированная система 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 от 0,1 до 7,0 Вт, температура от 0 °С до 70 °С или иное электрофоретическое оборудование для разделения белков методом ИЭФ.

5.1.2 Центрифуга рефрижераторная с частотой вращения не менее 13000 мин<sup>-1</sup>.

5.1.3 Пробирки центрифужные вместимостью 50 и 10 см<sup>3</sup>.

\* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008 «Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания».

- 5.1.4 Гели полиакриламидные (5 % Т, 3 % С), содержащие фармалит.
- 5.1.5 Аппликатор с капиллярными отверстиями объемом 1 мкл для внесения образцов в гель.
- 5.1.6 Микродозатор с переменным объемом дозирования от 0,5 до 10,0 мм<sup>3</sup> (шаг — 0,1 мм<sup>3</sup>, точность ± (1,5—5,0) %, воспроизводимость от 1,0 % до 5,0 %).
- 5.1.7 Наконечники для микродозаторов (микропипеток) с переменным объемом дозирования жидкостей.
- 5.1.8 Колбы стеклянные мерные плоскодонные конические вместимостью от 50 до 1000 см<sup>3</sup> по ГОСТ 25336.
- 5.1.9 Колбы стеклянные с градуированной горловиной вместимостью 100 см<sup>3</sup> по ГОСТ 12738.
- 5.1.10 Штамп лунок для образца с лунками вместимостью не менее 1,5 мкл.
- 5.1.11 Цилиндры стеклянные мерные лабораторные вместимостью 50 и 100 см<sup>3</sup> по ГОСТ 1770.
- 5.1.12 Пипетки стеклянные градуированные вместимостью 5 см<sup>3</sup> по ГОСТ 29227.
- 5.1.13 Ступка фарфоровая по ГОСТ 9147.
- 5.1.14 Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределом абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 г.
- 5.1.15 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда по ГОСТ 26678.
- 5.1.16 Пленка парафиновая.
- 5.1.17 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

## 5.2 Материалы

- 5.2.1 Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 19814, х.ч.
- 5.2.2 Медь сернокислая 5-водная по ГОСТ 4165, ч.д.а.
- 5.2.3 Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962, х.ч.
- 5.2.4 Краситель кумасси бриллиантовый голубой R 250.
- 5.2.5 Глицерин по ГОСТ 6259, ч.д.а.
- 5.2.6 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
- 5.2.7 Альдегид глутаровый с содержанием основного компонента не менее 25 %.
- 5.2.8 Серебро азотнокислое по ГОСТ 1277.
- 5.2.9 Натрий углекислый по ГОСТ 83.
- 5.2.10 Формальдегид по ГОСТ 1625.
- 5.2.11 *Трис*-HCl (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>HCl.
- 5.2.12 Кислота трихлоруксусная CCl<sub>3</sub>COOH.
- 5.2.13 Кислота уксусная синтетическая и регенерированная по ГОСТ 19814.
- 5.2.14 Набор стандартных калибровочных белков с известными изоэлектрическими точками в диапазоне рН 3—9; 4—6,5; 5—8.
- 5.2.15 Натрия тиосульфат кристаллический по ГОСТ 244.

## 6 Отбор проб

Отбор проб проводят по ГОСТ 7631.

## 7 Подготовка к проведению анализа. Приготовление растворов

### 7.1 Растворы для обработки гелей при окрашивании кумасси голубым

- 7.1.1 Фиксирующий раствор: в колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> помещают 100 г трихлоруксусной кислоты и доводят объем дистиллированной водой до метки. Раствор используют 3—4 раза.
- 7.1.2 Промывной раствор (обесцвечивающий): в колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 300 см<sup>3</sup> 96 %-ного этилового спирта, добавляют 600 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 100 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты. Раствор используют 3—4 раза.
- 7.1.3 Окрашивающие растворы состоят из основного и рабочего.
- 7.1.3.1 Основной раствор: в стеклянную плоскодонную колбу вместимостью 300 см<sup>3</sup> помещают (0,400 ± 0,001) г кумасси бриллиантового голубого, добавляют 80 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и

перемешивают в течение 10 мин. Затем добавляют 120 см<sup>3</sup> 96 %-ного этилового спирта и перемешивают в течение 5 мин.

7.1.3.2 Рабочий раствор: смешивают 10 см<sup>3</sup> раствора по 7.1.3.1 с 90 см<sup>3</sup> раствора по 7.1.2, добавляют (0,170 ± 0,001) г сернокислой 5-водной меди. Сульфат меди добавляют, чтобы уменьшить окрашивание фона. Раствор готовят непосредственно перед употреблением.

7.1.4 Консервирующий раствор: в колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 40 см<sup>3</sup> глицерина, добавляют 920 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 40 см<sup>3</sup> уксусной ледяной кислоты.

7.1.5 Промывной раствор готовят в количестве не менее 400 см<sup>3</sup>, фиксирующий, окрашивающий и консервирующий растворы — не менее 80 см<sup>3</sup>.

## 7.2 Растворы для обработки гелей при окрашивании серебром

7.2.1 Фиксирующий раствор: в колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> помещают (100,00 ± 0,01) г трихлоруксусной кислоты и доводят объем дистиллированной водой до метки. Раствор используют 3—4 раза.

7.2.2 Промывной раствор: в колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 100 см<sup>3</sup> 96 %-ного этилового спирта, добавляют 850 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 50 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты.

7.2.3 Раствор, усиливающий окраску (сенсibilизатор): в колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup> смешивают 30 см<sup>3</sup> 25 %-ного глутарового альдегида и 60 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

7.2.4 Окрашивающий раствор: в колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят (0,150 ± 0,001) г азотнокислого серебра и доводят объем дистиллированной водой до метки.

7.2.5 Раствор, развивающий окраску (проявитель): в колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 200 см<sup>3</sup> 12,5 %-ного раствора углекислого натрия, 800 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 400 мкл 37 %-ного формальдегида.

7.2.6 Раствор, останавливающий окраску: в колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят (1,60 ± 0,01) г тиосульфата натрия и (3,70 ± 0,01) г *трис*-HCl и доводят объем дистиллированной водой до метки.

7.2.7 Консервирующий раствор: в колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 10 см<sup>3</sup> глицерина и доводят объем дистиллированной водой до метки.

7.2.8 Промывной раствор готовят в количестве не менее 400 см<sup>3</sup>. Фиксирующий, окрашивающий, проявляющий растворы и растворы, усиливающий окраску и останавливающий окраску, готовят в количестве не менее 80 см<sup>3</sup>. Количество дистиллированной воды — не менее 400 см<sup>3</sup>.

## 8 Проведение анализа

### 8.1 Приготовление проб для анализа

8.1.1 Мышечную ткань исследуемого образца и референс-образца освобождают от крови, темных мышц. Навеску массой (5,0 ± 0,1) г светлой мышечной ткани рыбы-сырца, филе или сырого фарша измельчают в течение 30 с в ступке с 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

8.1.2 Смесь, полученную по 8.1.1, переносят в центрифужные пробирки вместимостью 50 см<sup>3</sup> и центрифугируют при температуре 4 °С в рефрижераторной центрифуге при частоте вращения 4000 мин<sup>-1</sup> в течение 15 мин.

8.1.3 Надосадочную жидкость, полученную по 8.1.2, переносят в центрифужные пробирки вместимостью 10 см<sup>3</sup> и центрифугируют при температуре 4 °С в рефрижераторной центрифуге при частоте вращения 12000 мин<sup>-1</sup> в течение 15 мин.

8.1.4 Надосадочную жидкость, полученную по 8.1.3, фильтруют через бумажный фильтр в колбу. Полученный прозрачный раствор используют для проведения ИЭФ.

### 8.2 Приготовление раствора стандартных образцов

Готовят раствор стандартных калибровочных белков в дистиллированной воде в зависимости от диапазона pH, выбранного для анализа: в 30—40 мкл дистиллированной воды для окрашивания кумаси и в 2 см дистиллированной воды для окрашивания серебром.

### 8.3 Проведение изоэлектрофокусирования на приборе

8.3.1 Включают систему.

8.3.2 Помещают полиакриламидный гель в систему в соответствии с инструкцией, прилагаемой к ней.

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

8.3.4 Растворы, полученные по 8.1.4 из анализируемого образца и референс-образца, а также раствор стандартного набора калибровочных белков с известной изоэлектрической точкой, выбранный в зависимости от заложенного в программе диапазона pH, вносят микродозатором в лунку в количестве 1,5 мкл.

8.3.5 Аппликатор опускают на поверхность растворов исследуемого образца, референс-образца и стандартного набора калибровочных белков, помещенных в лунки, сформированные в парафиновой пленке с помощью штампа по 8.3.3, нарушая поверхность капель для заполнения капилляров.

8.3.6 Аппликатор, наполненный образцами по 8.3.5, помещают в систему со стороны катода и проводят ИЭФ в автоматическом режиме на полиакриламидных гелях по программам в соответствии с таблицами 1 и (или) 2.

Выбор программы зависит от цели анализа: для выбора оптимального диапазона pH при измерении изоэлектрических точек используют широкий диапазон pH 3,0—9,0, для характеристики и анализа белков с небольшими различиями в изоэлектрической точке используют более узкие диапазоны: pH 5,0—9,0 и pH 4,0—6,5.

Программы проведения изоэлектрофокусирования в широком и узких диапазонах pH состоят из трех этапов:

- префокусирование (происходит формирование градиента pH);
- этап нанесения исследуемых образцов (белки вносятся в гель);
- этап разделения (белки мигрируют к своим изоэлектрическим точкам).

Таблица 1 — Программа проведения анализа ИЭФ в полиакриламидном геле в широком диапазоне pH 3,0—9,0

| Наименование этапа | Номер этапа | Условия       |         |              |                 |
|--------------------|-------------|---------------|---------|--------------|-----------------|
|                    |             | Напряжение, В | Ток, мА | Мощность, Вт | Температура, °С |
| Префокусирование   | 1,1         | 2000          | 2,5     | 3,5          | 15              |
| Нанесение образца  | 1,2         | 200           |         |              |                 |
| Разделение         | 1,3         | 2000          |         |              |                 |

Таблица 2 — Программа проведения анализа ИЭФ в полиакриламидном геле в узких диапазонах pH: 5,0—8,0 или 4,0—6,5

| Наименование этапа | Номер этапа | Условия       |         |              |                 |
|--------------------|-------------|---------------|---------|--------------|-----------------|
|                    |             | Напряжение, В | Ток, мА | Мощность, Вт | Температура, °С |
| Префокусирование   | 2,1         | 2000          | 2,0     | 3,5          | 15              |
| Нанесение образца  | 2,2         | 200           |         |              |                 |
| Разделение         | 2,3         | 2000          |         |              |                 |

Этап фокусирования продолжается от 8 до 10 мин. Общее время ИЭФ составляет около 30 мин. После окончания ИЭФ полиакриламидный гель помещают в камеру для окрашивания.

#### 8.4 Проведение окрашивания

Полиакриламидные гели окрашивают в автоматическом режиме с применением красителя кумаси бриллиантового голубого в соответствии с таблицей 3 для образцов с высоким (от 20 до 50 нг/мкл) содержанием белка или с применением азотнокислого серебра в соответствии с таблицей 4 для образцов с низким содержанием белка (от 1 до 5 нг/мкл).



Таблица 3 — Программа окрашивания полиакриламидных гелей с помощью раствора кумасси бриллиантового голубого

| Номер этапа | Наименование раствора | Время, мин | Температура, °С |
|-------------|-----------------------|------------|-----------------|
| 1           | Фиксирующий           | 5          | 20              |
| 2           | Промывной             | 2          | 20              |
| 3           | Окрашивающий          | 10         | 50              |
| 4           | Промывной             | 5          | 50              |
| 5           | Консервирующий        | 10         | 50              |

Таблица 4 — Программа окрашивания полиакриламидных гелей с помощью раствора азотнокислого серебра

| Номер этапа | Наименование            | Время, мин | Температура, °С |
|-------------|-------------------------|------------|-----------------|
| 1           | Фиксирующий             | 5,0        | 20              |
| 2           | Промывной               | 2,0        | 50              |
| 3           | Промывной               | 4,0        | 50              |
| 4           | Усиливающий окраску     | 6,0        | 50              |
| 5           | Промывной               | 3,0        | 50              |
| 6           | Промывной               | 5,0        | 50              |
| 7           | Дистиллированная вода   | 2,0        | 50              |
| 8           | Дистиллированная вода   | 2,0        | 50              |
| 9           | Окрашивающий            | 10,0       | 40              |
| 10          | Дистиллированная вода   | 0,5        | 30              |
| 11          | Дистиллированная вода   | 0,5        | 30              |
| 12          | Развивающий окраску     | 0,5        | 30              |
| 13          | Развивающий окраску     | 0,5        | 30              |
| 14          | Останавливающий окраску | 2,0        | 30              |
| 15          | Консервирующий          | 5,0        | 50              |

Растворы используют только один раз (за исключением фиксирующего раствора), не применяя циркуляцию. Приготовленные растворы, за исключением проявителя, стабильны 2—3 сут при температуре от 20 °С до 25 °С.

Окрашивание и обесцвечивание занимают от 30 до 35 мин. После консервирования полиакриламидные гели вынимают из системы и высушивают при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 4 ч.

## 9 Обработка результатов анализа

9.1 Полученную картину распределения белковых полос анализируемой пробы сравнивают с картиной распределения белковых полос референс-образца.

9.2 Строят графическую зависимость значений изоэлектрических точек стандартных белков от расстояния каждой белковой полосы до катода (см. приложение А.2).

9.3 Измеряют расстояние от катода до локализации белковых полос исследуемого образца и референс-образца и с помощью калибровочного графика, построенного по 9.2, находят соответствующие значения изоэлектрических точек белков.

Графическое построение и определение изоэлектрических точек может осуществляться с помощью компьютерной программы после переноса изображения распределения белковых полос с полиакриламидного геля на монитор компьютера с использованием систем видеодокументирования.

9.4 Совпадение картин распределения белковых полос и совпадение значений изоэлектрических точек маркерных белков анализируемого и референс-образцов свидетельствует об их идентичности и подтверждает правильность наименования анализируемого образца. Пример результата анализа и его компьютерной обработки для разных видов исследуемых объектов приведен в приложении А.

9.5 Для подтверждения результатов идентификации проводят параллельное разделение белковых полос как из одной пробы, так и из разных проб, полученных из двух-трех образцов анализируемого объекта.

9.6 Результаты анализа оформляют в виде протокола. Образцы протоколов приведены в приложении Б.

## **10 Требования безопасности**

10.1 При выполнении всех работ необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007.

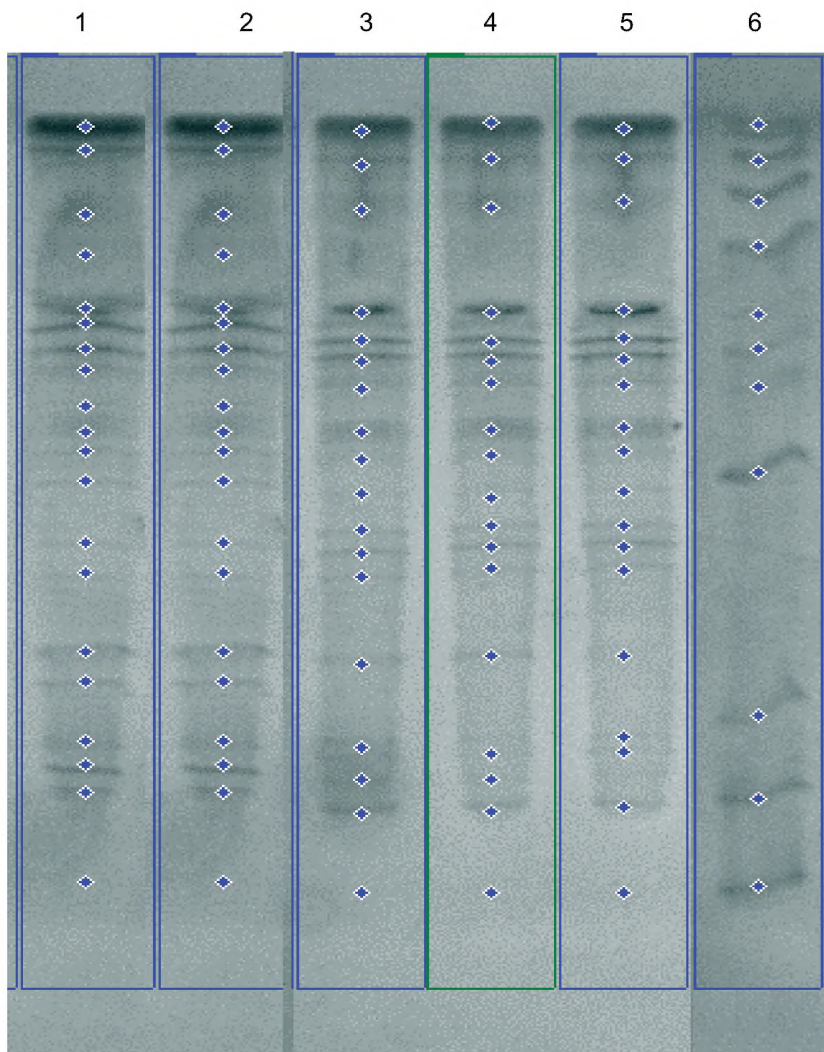
10.2 Помещение, в котором проводятся работы, должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

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

Приложение А  
(справочное)

Результаты проведения анализа и компьютерной обработки полученных данных

А.1 Пример фотографии распределения белковых полос на экране монитора компьютера приведен на рисунке А.1.



П р и м е ч а н и е — На фотографии представлены следующие линии:  
- 1 и 2 — анализируемый образец филе форели № 1;  
- 3 и 4 — анализируемый образец филе форели № 2;  
- 5 — референс-образец форели;  
- 6 — стандартный набор белков.

Рисунок А.1

А.2 График, полученный в результате разделения стандартных образцов, обработанный с помощью компьютерной программы, приведен на рисунке А.2.

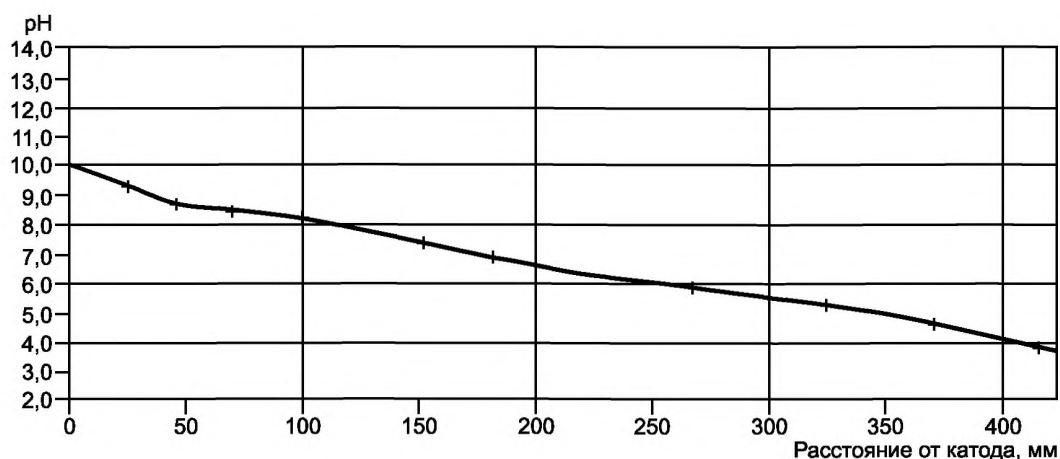


Рисунок А.2

А.3 Пример компьютерной обработки данных, полученных в результате анализа, приведен в таблице А.1.

Таблица А.1

| Образец № 1 |           |                      | Образец № 2 |           |                      | Референс-образец (форель) |
|-------------|-----------|----------------------|-------------|-----------|----------------------|---------------------------|
| 1-я проба   | 2-я проба | среднее значение pI* | 1-я проба   | 2-я проба | среднее значение pI* |                           |
| 9,23        | 9,21      | 9,22 ± 0,01          | 9,33        | 9,37      | 9,35 ± 0,02          | 9,34                      |
| 8,80        | 8,80      | 8,80                 | —           | —         | —                    | —                         |
| 7,41        | 7,45      | 7,43 ± 0,02          | 7,39        | 7,39      | 7,39                 | 7,38                      |
| 6,85        | 6,85      | 6,85                 | 6,94        | 6,96      | 6,95 ± 0,01          | 6,93                      |
| 6,16        | 6,20      | 6,18 ± 0,02          | 6,68        | 6,74      | 6,70 ± 0,02          | 6,73                      |
| —           | —         | —                    | 6,13        | 6,13      | 6,13                 | 6,15                      |
| 5,39        | 5,41      | 5,40 ± 0,01          | 5,50        | 5,48      | 5,49 ± 0,01          | 5,50                      |
| 5,33        | 5,33      | 5,33                 | —           | —         | —                    | —                         |
| 4,64        | 4,60      | 4,62 ± 0,02          | 4,40        | 4,42      | 4,41 ± 0,01          | 4,41                      |

\* pI — изоэлектрические точки маркерных белков.

А.4 Обобщение результатов анализа для определения вида анализируемого объекта по рисункам А.1, А.2 и таблице А.1.

А.4.1 В результате изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле выделенных белков светлой мышечной ткани двух исследованных образцов от разных производителей, имеющих одно торговое наименование, и референс-образца получены отличающиеся друг от друга картины распределения белковых полос.

А.4.2 У анализируемого образца № 1 локализация маркерных белков не совпадает с основными белковыми полосами референс-образца. Таким образом, можно сделать вывод, что образец № 1 не соответствует своему наименованию.

А.4.3 У анализируемого образца № 2 картина распределения маркерных белков и изоэлектрических точек полностью совпадают с локализацией основных белков референс-образца и их значениями pI. Наименование этого образца соответствует наименованию на этикетке.

Приложение Б  
(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

\_\_\_\_\_

наименование образца

\_\_\_\_\_

соответствует или не соответствует

\_\_\_\_\_

наименование вида рыбы

Исполнители:

\_\_\_\_\_

личная подпись

\_\_\_\_\_

инициалы, фамилия

\_\_\_\_\_

личная подпись

\_\_\_\_\_

инициалы, фамилия

Руководитель испытательной лаборатории

\_\_\_\_\_

личная подпись

\_\_\_\_\_

инициалы, фамилия

МП

Заключение распространяется на образец, представленный на испытания.

---

УДК 576.8.078:006.354

МКС 67.120.30

Н29

Ключевые слова: рыба и продукция из нее, видовая идентификация, метод изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле

---

Редактор *Л.В. Коретникова*  
Технический редактор *В.Н. Прусакова*  
Корректор *И.А. Королева*  
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 16.09.2014. Подписано в печать 27.10.2014. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,49. Тираж 54 экз. Зак. 4397.

---

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)