
**МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И
СЕРТИФИКАЦИИ**

(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION

(ISC)

**МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ**

ГОСТ

*(окончательная
редакция)*

**ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ. ПРОДУКТЫ
БЕЗГЛЮТЕНОВЫЕ И С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ГЛЮТЕНА.**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ГЛЮТЕНА
ИММУНОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его принятия

**Москва
Российский институт стандартизации
202_**

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 науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»)

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 526 «Функциональные пищевые продукты»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 202_ г. № ____)

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

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от _____ г. № _____ межгосударственный стандарт ГОСТ _____ введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с _____

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»

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 202_



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
2 Нормативные ссылки
3 Термины и определения
4 Сущность метода
5 Требования безопасности
6 Требования к оператору
7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы
8 Подготовка к проведению иммунохимического анализа
9 Проведение иммунохимического анализа
10 Обработка и оформление результатов
11 Метрологические характеристики метода
Приложение А (справочное) Информация о применяемых технических регламентах и нормативных правовых актах в государствах-участниках СНГ
Приложение Б (рекомендуемое) Тест-системы для определения содержания глютена.....

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

Продукция пищевая специализированная. Продукты безглютеновые и с низким содержанием глютена

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ГЛЮТЕНА ИММУНОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Specialized food products. Gluten free and low-gluten products. Determining of residual amounts of gluten by immunochemical methods

Дата введения —

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на специализированную пищевую продукцию диетического лечебного и/или диетического профилактического питания – безглютеновые продукты или продукты с низким содержанием глютена и устанавливает методы количественного и качественного определения суммы проламинов пшеницы (глиадина), ржи (секалина) и ячменя (гордеина) с помощью иммунохимических методов анализа.

Настоящий стандарт допускается применять для определения содержания остаточных количеств глютена в продуктах, используемых для формирования рациона больных целиакией, а также в сырье для производства безглютеновой продукции или продукции с низким содержанием глютена и в образцах, взятых с рабочих поверхностей и оборудования в помещениях для их производства или переработки.

Диапазоны измерений содержания глютена, в зависимости от применяемой тест-системы, составляют: 2,0-270,0 мг/кг.

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

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

ГОСТ 245 Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия

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

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 5667 Изделия хлебобулочные. Правила приемки, методы отбора образцов, методы определения органолептических показателей и массы изделий

ГОСТ 5904 Изделия кондитерские. Правила приемки, методы отбора и подготовки проб.

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия*

ГОСТ 9147 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9805 Спирт изопропиловый. Технические условия

ГОСТ 10521-78 Реактивы. Кислота бензойная. Технические условия.

ГОСТ 11773 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный. Технические условия

ГОСТ 13586.3 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 24104 Весы лабораторные. Общие технические требования**

ГОСТ 24583 Крахмал и крахмалопродукты. Термины и определения

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

ГОСТ 26312.1 Крупа. Правила приемки и методы отбора проб

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144-2018 Вода дистиллированная. Технические условия

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 26313 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

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

ГОСТ 27668 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб

ГОСТ 28311 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

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

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

ГОСТ 31720 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы отбора проб и органолептического анализа

ГОСТ 33444 Крахмал и крахмалопродукты. Методы отбора проб

ГОСТ 33629 Консервы молочные. Молоко сухое. Технические условия

ГОСТ 34110 Фрукты, овощи, грибы и продукты их переработки замороженные. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ ИСО 3100-1 Мясо и мясные продукты. Отбор и подготовка проб. Часть 1. Отбор проб с дополнительными требованиями *

ГОСТ ИСО 5725-6 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.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 51447—99 Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

Примечание – при пользовании настоящего стандарта целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (www.easc.by) или 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 и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 24583 и следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 проламины: Группа резервных спирторастворимых белков эндосперма семян злаков: проламины пшеницы (глиадины), проламины ржи (секалины), проламины ячменя (гордеины), проламины овса (авенины).

3.2 пищевая продукция безглютеновая: Пищевая продукция, содержание глютена в которой не превышает 20 мг/кг продукции, произведенная из ингредиентов, изначально не содержащих глютен, и/или ингредиентов, из которых специально удален глютен.

3.3 пищевая продукция с низким содержанием глютена: Пищевая продукция, содержание глютена в которой от 20 до 100 мг/кг продукции, произведенная из ингредиентов, изначально не содержащих глютен, и/или ингредиентов, из которых специально удален глютен.

3.4 антитела R5: Антитела к аминокислотным последовательностям глютена, токсичным для больных целиакией.

3.5 целиакия: Системное иммуно-опосредованное заболевание, развивающееся при регулярном употреблении глютена и характеризующееся наличием разнообразных глютен-зависимых симптомов, повышением в сыворотке аутоантител, формированием атрофической энтеропатии и присутствием в генотипе HLA-DQ2/DQ8 гаплотипов.

3.6 тест-система: Набор (комплект) специально подобранных реактивов и составных частей (микротитровальный планшет на 96 лунок 12x8, сенсibilизированных антителами; комплект стандартных растворов, растворы конъюгата, субстрата и

хромогена, стоп-реагент), предназначенных для определения одного или нескольких конкретных веществ.

3.7 тест-полоски: Бумажные или пластиковые полоски, на которые нанесен химический реагент, меняющий цвет при контакте с определенным веществом в биологических жидкостях или экстрактах, использующиеся для быстрой диагностики различных показателей в качестве экспресс-тестов.

3.8 основной раствор: Раствор реактива, предварительно приготавливаемый и необходимый для приготовления других растворов.

3.9 рабочий раствор: Раствор одного или нескольких реактивов, приготовленный непосредственно перед использованием и необходимый для выполнения процедуры анализа.

3.10 конъюгат: Искусственно синтезированная (химически или путем рекомбинации *in vitro*) гибридная молекула, в которой соединены (объединены) две молекулы с разными свойствами.

3.11 надосадок (надосадочная жидкость): Вся неосаждённая взвесь, образующаяся при центрифугировании смеси твердых и жидких веществ, располагающаяся в емкости для центрифугирования над осадком.

3.12 стоп-реагент: Реагент, предназначенный для остановки иммуноферментной реакции, содержащий серную или соляную кислоту в концентрации 1 – 2 н.

Примечание - Информация о технических регламентах и нормативных правовых актах приведена в приложении А.

4 Сущность метода

4.1 Метод основан на обнаружении глиаина и родственных проламинов других злаков в подготовленной соответствующим образом пробе путем постановки иммунохимических тестов.

4.2 Антитела, используемые в иммунохимических методах, реагируют с фракциями белков зерновых культур (антиген), обладающих токсичностью для людей с непереносимостью глютена и, в то же время, не реагируют с другими белками зерновых культур или другими компонентами, содержащимися в пищевых продуктах или ингредиентах.

4.3 Для количественного определения глютена применяется иммуноферментный метод анализа с использованием моноклональных антител, специфичных к глютену. Для качественного определения глютена применяют иммунохроматографические тест-полоски.

Примечание - При осуществлении лабораторного контроля при импортно-экспортных операциях рекомендуется использовать тест-системы, разработанные в соответствии с принципами официального метода Комиссии Codex Alimentarius (антитела R5, экстракция по Мендесу, использование стандартного образца, разработанного группой исследователей по проламинам (PWG)), типа RIDASCREEN® Gliadin.

4.4 При иммуноферментном сэндвич-методе анализа определение глютена происходит за счет специфического взаимодействия его спирторастворимых фракций - проламинов пшеницы, ржи и ячменя, содержащихся в исследуемом материале, с антителами к глиадину, адсорбированными на планшете. К образовавшемуся комплексу «антитело-антиген» добавляют раствор конъюгата, содержащего антитела к глиадину с ферментом. Образуется новый комплекс «антитело-антиген-антитело+фермент» («сэндвич»). После добавления субстрата и хромогена происходит химическое взаимодействие, при котором ферментный фрагмент молекулы конъюгата выступает в качестве катализатора, и образуются окрашенные продукты реакции. Образующийся аналитический сигнал, зависящий от результатов взаимодействия комплекса «антитело-антиген» с конъюгатом на поверхности ячеек планшета, измеряют по регистрируемому значению оптической плотности при длине волны 450 нм, а затем пересчитывают на глютен.

4.5 При конкурентном иммуноферментном методе анализа выявляется глютен в ферментированных и частично гидролизированных пищевых продуктах. Анализируемое вещество (антиген) из образца конкурирует с его меченым аналогом (конъюгатом) за ограниченное число участков связывания со специфическим антителом, иммобилизованным на твердой фазе (планшете). Чем больше исследуемого антигена в образце, тем меньше меченого аналога сможет связаться с антителами, что приводит к обратно пропорциональной зависимости между концентрацией аналита и интенсивностью окрашивания.

4.6 В процессе иммунохроматографического анализа реагенты мигрируют по мембране тест-полоски, пропитанной антителами к глиадину в фиксированной и свободной форме. Молекулы глиадина связываются с антителами, нанесенными на подвижные микрочастички красного цвета. Образующийся иммунохимический комплекс «антитело-антиген» глиадина с микрочастичками переносится капиллярными силами по мембране в зону, где нанесены зафиксированные на поверхности антитела к глиадину. В этой части полоски, называемой реакционной зоной, микрочастички с глиадином иммуносорбируются антителами на поверхности мембраны, в результате чего на мембране появляется полоска красного цвета.

Несвязанные окрашенные частички перемещаются далее по мембране и сорбируются в другой ее части, называемой «контрольной». Появляющаяся в

контрольной зоне мембраны цветная полоска подтверждает правильность испытания. Результат оценивается визуально.

5 Требования безопасности

5.1 При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования: воздух рабочей зоны должен соответствовать ГОСТ 12.1.005.

Помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021.

Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать гигиенических нормативов*, действующих на территории государства, принявшего стандарт.

5.2 При подготовке и проведении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

5.3 Работу необходимо проводить, соблюдая правила личной гигиены и противопожарной безопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.004, и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

5.4 При работе с электроприборами необходимо соблюдать требования безопасности по ГОСТ 12.1.019.

6 Требования к оператору

Работу по указанной методике могут выполнять специалисты, владеющие техниками иммуноферментного анализа и подготовки проб и изучившие инструкцию по эксплуатации к используемому планшетному иммуноферментному анализатору.

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

7.1 Средства измерений

Планшетный иммуноферментный анализатор (планшетный фотометр, ридер) с диапазоном линейности измерения оптической плотности 0-3 ед. и длине волны 450 нм.

Весы неавтоматического действия I (специального) класса точности по ГОСТ 24104 и ГОСТ OIML R 76-1 с пределом допускаемой погрешности $\pm 0,001$ г.

Весы неавтоматического действия III класса точности по ГОСТ 24104 и ГОСТ OIML R 76-1 с пределом допускаемой погрешности $\pm 0,01$ г.

* В Российской Федерации - нормативов по СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания».

Дозаторы одноканальные переменной вместимостью 0,1–1,0 см³, 1,0–10,0 см³ с характеристиками отклонений объемов доз по ГОСТ 28311.

Микродозаторы с переменным объемом от 1,0 до 10,0 мм³ и от 5,0 до 40,0 мм³.

Дозаторы одноканальные с диапазоном объема доз 10-5000 мм³ и дискретностью установки доз 25 мм³.

Дозаторы восьмиканальные с диапазоном объема доз 50-300 мм³ с характеристиками отклонений объемов доз по ГОСТ 28311.

Цилиндры мерные вместимостью 1-10-1 и 1-100-1 по ГОСТ 1770.

Секундомер с допускаемой погрешностью при измерении интервала времени до 30 мин ± 3с.

7.2 Вспомогательное оборудование

Водяная баня с диапазоном рабочей температуры 20-100 °С с точностью до 1°С.

Центрифуга лабораторная с регулировкой скорости вращения и обеспечивающая центробежное ускорение не менее 2500 g.

Термостат суховоздушный или инкубатор, поддерживающий температуру 37±2 °С.

Лабораторная мельница (гомогенизатор) или диспергатор.

Лабораторный встряхиватель (вортекс).

Лабораторный шейкер (встряхиватель).

Стаканы стеклянные В-1-100, В-1-500 и В-1-1000 по ГОСТ 25336.

Пробирки стерильные с закручивающимися крышками вместимостью 10 см³.

Пробирка коническая микроцентрифужная с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,7 см³.

Сито лабораторное с размером отверстий 90 мкм из ткани по ГОСТ 4403 и с размером отверстий 250 мкм из ткани по ГОСТ 4403.

Цилиндры мерные вместимостью 1-10-1 и 1-100-2 по ГОСТ 1770.

pH-метр с диапазоном измерений от 0 до 12 (14) ед. pH и допускаемой абсолютной погрешностью ±0,05 ед. pH.

Колбы конические 1-100-2 и 1-200-2 по ГОСТ 25336.

Ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 9147.

Шпатель лабораторный.

Перчатки.

7.3 Реактивы и материалы

Тест-система для иммуноферментного сэндвич-анализа (см. приложение Б), которая предназначена для количественного определения глиаина и проламинов ржи и ячменя в пищевых продуктах и сырье для их производства (тест-систему следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока хранения).

Тест-система для иммуноферментного сэндвич-анализа (см. приложение Б), которая предназначена для определения глиаина и проламинов ржи и ячменя в пищевых продуктах и сырье для их производства при производственном контроле (тест-систему следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока хранения).

Тест-система для конкурентного иммуноферментного анализа (см. приложение Б), которая предназначена для определения глиаина и проламинов ржи и ячменя в ферментированных и гидролизованных пищевых продуктах (тест-систему следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в пределах срока хранения).

Тест-полоски для иммунохроматографического экспресс-метода анализа (см. приложение Б), которые предназначены для качественного определения глиаина и проламинов ржи и ячменя в пищевых продуктах и в образцах, взятых с рабочих поверхностей и оборудования в помещениях для их производства или переработки.

Коктейль или раствор для экстракции глютена*.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709**.

Обезжиренное сухое молоко по ГОСТ 33629.

Рыбный желатин (CAS N 9003-39-8, с молекулярной массой 60 кДа).

Натрий фосфорно-кислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773.

Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Кислота серная по ГОСТ 4204.

* Например, коктейль Мендеса® (R-Biopharm AG, Германия) или его аналог. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможности использования другого реагента для экстракции глютена с аналогичными характеристиками. Извлекаемость глютена при использовании аналога коктейля Мендеса® должна быть в диапазоне 70-110%. Полноту извлечения вещества можно оценить в ходе верификации методики в испытательной лаборатории спайк-методом (внесено/найдено), искусственно контаминируя анализируемые пробы, не содержащие глютена, с помощью раствора глиаина концентрации 125 мкг/см³, приготовленного путем экстракции пшеничного глютена по ГОСТ 31934-2012 60% раствором этилового спирта (8.3.5.2). Например, при внесении 50 мм³ этого раствора в навеску пробы 250 мг ожидаемая концентрация глютена в пробе будет составлять 50 мг/кг.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144-2018 Вода дистиллированная. Технические условия

Казеинат натрия.

Твин-20.

Кислота бензойная по ГОСТ 10521.

Набор стандартных образцов с сертифицированным содержанием глиадина.

Допускается применение других аналогичных тест-систем, средств измерений, вспомогательного оборудования и посуды, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность (правильность и прецизионность) измерения, а также реактивов и материалов, по качеству не ниже указанных.

8 Подготовка к проведению иммуноферментного анализа

8.1 Подготовка оборудования

8.1.1 Подготовку и проверку планшетного иммуноферментного анализатора (планшетного фотометра, ридера), центрифуги лабораторной, лабораторного шейкера (встряхивателя), лабораторного шейкера типа Вортекс, лабораторной мельницы (гомогенизатора) и водяной бани проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническим описанием к приборам.

8.1.2 Для предотвращения получения ложноположительных результатов анализа вследствие возможного загрязнения рабочей зоны, воздуха, рук, лабораторной посуды, оборудования, воды и реагентов глиадином необходимо:

- осуществлять пробоподготовку и выполнение анализа в разных комнатах;
- выполнять анализ в разовых резиновых перчатках;
- промывать поверхности рабочей зоны, все рабочие поверхности лабораторного оборудования (мельницы, гомогенизатора и т.д.) и стеклянную посуду 60 %-м раствором этилового или изопропилового спирта (см. 8.3.5) перед началом анализа и после каждой процедуры, перед началом последующего анализа, а для проверки чистоты можно использовать тест-полоски для экспресс-определения глиадина методом иммунохроматографического анализа;

- тщательно очищать оборудование от остатков предыдущей пробы перед анализом последующей во избежание перекрестного загрязнения.

8.2 Отбор проб

Отбор проб проводят по ГОСТ 5667, ГОСТ 5904, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 26312.1, ГОСТ 26313, ГОСТ 26809.1, ГОСТ 27668, ГОСТ 31339, ГОСТ 31467, ГОСТ 31720, ГОСТ 33444, ГОСТ 34110, ГОСТ ИСО 3100-1 (раздел 1, пункты 4.2.4, 4.4.1).

8.3 Приготовление растворов

8.3.1 Растворы готовят в отдельном помещении, чтобы избежать необратимого загрязнения их материалом проб.

8.3.2 Приготовление разбавляющего буферного раствора

8.3.2.1 Используют готовый буферный раствор в составе набора.

8.3.2.2 Разбавляющий буферный раствор поставляется в концентрированном виде (5-кратный концентрат) (см. Приложение Б). Количество необходимого буферного раствора следует оценивать по потребности. Для приготовления рабочего раствора концентрированный разбавляющий буферный раствор разбавляют дистиллированной водой, не загрязненной глиадиновой пылью, в 5 раз. Готовят только необходимое количество буферного раствора.

8.3.3 Приготовление раствора конъюгата

8.3.3.1 Используют готовый раствор конъюгата. Раствор конъюгата поставляется в концентрированном виде. Перед разбавлением концентрированного раствора конъюгата осторожно встряхивают содержимое флакона.

8.3.3.2 Для приготовления рабочего раствора концентрированный раствор конъюгата разбавляют дистиллированной водой, не загрязненной глиадиновой пылью, в отношении 1:11 (например, смешивают $0,1 \text{ см}^3$ концентрата конъюгата с 1 см^3 воды). Поскольку разбавленный раствор конъюгата имеет ограниченную стабильность, следует готовить раствор непосредственно перед применением по потребности.

8.3.3.3 Для тест-систем, подобных ХЕМАТест ГЛЮТЕН (см. Приложение Б).

Для приготовления рабочего раствора концентрированный раствор конъюгата разбавляют буфером для разведения концентрата конъюгата, входящим в набор, в 61 раз (например, смешивают $0,015 \text{ см}^3$ концентрата конъюгата с $0,9 \text{ см}^3$ буфера). Поскольку разбавленный раствор конъюгата имеет ограниченную стабильность, следует готовить раствор непосредственно перед применением по потребности.

8.3.4 Приготовление буферного раствора для промывки

8.3.4.1 Используют готовый буферный раствор для промывки.

8.3.4.2 Буферный раствор для промывки поставляется в концентрированном виде (10-кратный концентрат) (см. Приложение Б). Перед разбавлением буферного раствора для промывки полностью растворяют кристаллы, которые могут образоваться во флаконе с концентрированным раствором при его хранении. Для этого помещают флакон в водяную баню при температуре $37 \text{ }^\circ\text{C}$ до растворения кристаллов.

Для приготовления рабочего раствора концентрированный буферный раствор для промывки разбавляют дистиллированной водой, не загрязненной глиадиновой пылью, в

10 раз. Готовый буферный раствор для промывки стабилен в течение 4 недель при температуре 2-8 °С.

8.3.4.3 Для тест-систем, подобных ХЕМАТест ГЛЮТЕН (см. Приложение Б).

Буферный раствор для промывки поставляется в концентрированном виде (26-кратный концентрат). Для приготовления рабочего раствора концентрированный раствор разбавляют дистиллированной водой, не загрязненной глиадиновой пылью, в 26 раз. Готовый буферный раствор для промывки стабилен в течение 30 суток при температуре 2-8 °С.

8.3.5 Приготовление растворов спиртов

8.3.5.1 80 %-й раствор этилового спирта

В мерную колбу на 100 см³ мерным цилиндром отмеряют 80 см³ этилового спирта, затем отмеряют мерным цилиндром и добавляют 20 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят в темном прохладном месте в течение одного месяца.

8.3.5.2 60 %-й раствор этилового спирта

В мерную колбу на 100 см³ мерным цилиндром отмеряют 60 см³ этилового спирта, затем отмеряют мерным цилиндром и добавляют 40 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят в темном прохладном месте в течение одного месяца.

8.3.5.3 70 %-й раствор этилового спирта

В мерную колбу на 100 см³ мерным цилиндром отмеряют 70 см³ этилового спирта, затем отмеряют мерным цилиндром и добавляют 30 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят в темном прохладном месте в течение одного месяца.

8.3.6 Приготовление раствора рыбного желатина

Для тест-систем, подобных RIDASCREEN® Gliadin competitive (см. Приложение Б).

В мерный цилиндр на 100 см³ отбирают 30 см³ дистиллированной воды и отвешивают (10,0000±0,0001) г рыбного желатина и хорошо перемешивают. Добавляют 60 см³ этилового спирта, перемешивают, доводят pH раствора до 8,5 и дистиллированной водой доводят объем до 100 см³.

Приготовленный раствор стабилен в течение 3-4 недель при комнатной температуре. Раствор хорошо перемешивают перед использованием.

8.3.7 Приготовление буферного раствора для экстракции образца при использовании тест-полосок, подобных ХЕМАТест ГЛЮТЕН или аналогов (см. приложение Б)

Используйте готовый буферный раствор для экстракции образцов. Во флакон с буферным раствором для экстракции образца доверху наливают этиловый спирт с концентрацией не ниже 95 %. Готовый буферный раствор хранят до истечения срока

годности тестов. При частичном использовании тестов или длительном хранении рекомендовано приготовить новую порцию буферного раствора из второго флакона.

9 Проведение анализа

9.1 Проведение анализа при использовании тест-систем, подобных RIDASCREEN® Gliadin или аналогов (см. приложение Б)

9.1.1 Подготовка проб к анализу

Твердые образцы: берут навеску ($5,00 \pm 0,01$) г образца и тщательно гомогенизируют с помощью лабораторной мельницы, гомогенизатора или фарфоровой ступки с пестиком до порошкообразного состояния.

Образцы с неоднородным распределением глютена (например, сосиски и другие мясные продукты): в таких образцах глютен может быть распределен неравномерно, поэтому для обеспечения представительности анализа гомогенизируют минимум ($50,00 \pm 0,01$) г пробы.

Овес (зерно, овсяная мука, крупа, овсяные хлопья и продукты их переработки): глиадин в образце может быть распределен неравномерно, кроме того, образец овса трудно гомогенизировать, поэтому гомогенизируют не менее ($200,00 \pm 0,01$) г пробы.

Жидкие образцы тщательно перемешивают в течение 30 сек.

9.1.2 Экстракция с помощью коктейля для экстракции глютена

Твердые образцы: смешивают в пробирке ($0,2500 \pm 0,0001$) г гомогенизированной пробы и $2,5 \text{ см}^3$ коктейля.

Жидкие образцы: смешивают в пробирке $0,25 \text{ см}^3$ гомогенизированной пробы и $2,5 \text{ см}^3$ коктейля.

Образцы, содержащие полифенольные соединения (танин и др.) (например, какао, шоколад, чай, кофе, чечевица и др.): смешивают в пробирке ($0,2500 \pm 0,0001$) г гомогенизированной пробы, ($0,2500 \pm 0,0001$) г обезжиренного сухого молока и $2,5 \text{ см}^3$ коктейля. Рекомендуется проверять сухое молоко на отсутствие примеси глютена с помощью тест-полосок, для экспресс-определения глютена перед его внесением в образец или непосредственно во время опыта в качестве дополнительного образца. При положительных результатах сухое молоко следует заменить и повторить опыт.

Овес (зерно, овсяная мука, крупа, овсяные хлопья и продукты их переработки): проводят экстракцию, используя не менее, чем четырехкратное количество реагентов: к ($1,00 \pm 0,01$) г гомогенизированной пробы добавляют 10 см^3 коктейля.

Пробирки хорошо закрывают крышками и тщательно перемешивают на лабораторном шейкере типа Вортекс.

Инкубируют пробирки на водяной бане в течение 40 мин при температуре 50 °С.

В охлажденные пробирки вносят 7,5 см³ 80 %-го раствора этилового спирта (для образцов овса: 30 см³ 80 %-го раствора этилового спирта по 8.3.5.1), закрывают крышку и снова тщательно перемешивают на лабораторном шейкере типа Вортекс.

Встряхивают пробирки в течение 60 мин на лабораторном шейкере (встряхивателе) для пробирок при комнатной температуре, переворачивая их.

Пробирки центрифугируют при ≥ 2500 g в течение 10 мин при комнатной температуре.

Надосадоk переносят в чистую пробирку с завинчивающейся крышкой. Экстракты хранят в плотно закрытых пробирках в течение 4 недель при комнатной температуре в темноте.

9.1.3 Проведение анализа

Воспроизводимость результатов иммуноферментного анализа существенно зависит от тщательности отмывки планшета в процессе анализа. В процессе выполнения анализа не допускают высыхания лунок планшета.

На всех стадиях инкубации избегают воздействия прямого солнечного света (при инкубации рекомендуется прикрыть планшет крышкой).

9.1.3.1 Приготовление рабочих растворов исследуемых образцов

Экстракты из проб продуктов, полученные по 9.1.2 разбавляют готовым разбавляющим буферным раствором (см. 8.3.2) в 12,5 раз (смешивают 80 мм³ экстракта и 920 мм³ готового разбавляющего буферного раствора).

Для анализа используют 100 мм³ рабочего раствора исследуемых образцов на лунку планшета.

9.1.3.2 Проведение испытаний

В рамку планшета вставляют лунки в количестве, необходимом для выполнения всех запланированных определений в двух параллельных измерениях. Координаты лунок, предназначенных для стандартных растворов и подготовленных исследуемых растворов, записывают в таблицу.

С помощью пипеточного дозатора добавляют по 100 мм³ стандартных и исследуемых растворов в соответствующие пары лунок и помещают планшет на инкубацию в течение 30 мин при комнатной температуре.

По окончании сорбции выполняют промывку планшета. Для этого удаляют жидкость из лунок встряхиванием перевернутого планшета и тщательно выбивают капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Далее наполняют лунки 0,25 см³ буферного раствора для промывки (см. 8.3.4) и снова выливают жидкость. Выбивают капельки

жидкости как описано выше и повторяют процедуру отмывки лунок моющим буферным раствором еще 2 раза.

С помощью пипеточного дозатора добавляют в каждую лунку по 100 мм³ готового раствора конъюгата (см. 8.3.3). Осторожно перемешивают вручную и оставляют на инкубацию в течение 30 мин при комнатной температуре.

Далее выполняют промывку планшета как указано выше.

С помощью пипеточного дозатора добавляют по 50 мм³ субстрата и по 50 мм³ хромогена в каждую лунку. Осторожно перемешивают вручную и инкубируют в течение 30 мин в темноте при комнатной температуре.

С помощью пипеточного дозатора добавляют в каждую лунку по 100 мм³ стоп-реагента и осторожно перемешивают вручную.

В течение 30 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке.

9.1.3.3 Для проверки правильности анализа рекомендуется использовать контрольные образцы: отрицательный контроль - не содержит глиаина, и два положительных контроля с разным, сертифицированным содержанием глиаина.

Для подготовки стандартных образцов для анализа в пробирке взвешивают (1,0000±0,0001) г стандартного образца и добавляют 10 см³ 60 %-го раствора этанола по 8.3.5.2.

Пробирки хорошо закрывают крышками и тщательно перемешивают на лабораторном шейкере типа Вортекс в течение 30 сек .

На лабораторном шейкере (встряхивателе) для пробирок в течение 10 мин при комнатной температуре встряхивают пробирки, переворачивая их.

Центрифугируют при ≥2500 g в течение 10 мин при комнатной температуре.

Надосадок переносят в чистую пробирку с завинчивающейся крышкой. Эти пробирки могут храниться в течение 4 недель при комнатной температуре в темноте.

Подготовленные стандартные образцы сначала разбавляют разбавляющим буферным раствором (см. 8.3.2) в 50 раз, затем вносят в планшет вместе со стандартными и исследуемыми растворами (см. 9.1.3.2).

9.2 Проведение анализа при использовании тест-систем, подобных RIDASCREEN® FAST Gliadin или аналогов (см. приложение Б)

9.2.1 Подготовку проб к анализу, экстракцию из образцов глютена и приготовление рабочих растворов исследуемых образцов проводят по 9.1.1 - 9.1.3.1.

9.2.2 Проведение анализа

9.2.2.1 Проведение испытаний

В рамку планшета вставляют лунки в количестве, необходимом для выполнения всех запланированных определений в двух параллельных измерениях. Координаты лунок, предназначенных для стандартных растворов и подготовленных исследуемых растворов, записывают в таблицу.

С помощью пипеточного дозатора добавляют по 100 мм^3 стандартных и исследуемых растворов в соответствующие пары лунок и помещают планшет на инкубацию в течение 10 мин при комнатной температуре.

По окончании сорбции выполняют промывку планшета. Для этого удаляют жидкость из лунок встряхиванием перевернутого планшета и тщательно выбивают капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Далее наполняют лунки $0,25 \text{ см}^3$ буферного раствора для промывки (см. 8.3.4) и снова выливают жидкость. Выбивают капельки жидкости как описано выше и повторяют процедуру отмывки лунок моющим буферным раствором еще 2 раза.

С помощью пипеточного дозатора добавляют в каждую лунку по 100 мм^3 готового раствора конъюгата (см. 8.3.3). Осторожно перемешивают вручную и оставляют на инкубацию в течение 10 мин при комнатной температуре.

Далее выполняют промывку планшета как указано выше.

С помощью пипеточного дозатора добавляют по 100 мм^3 субстрата/хромогена в каждую лунку. Осторожно перемешивают вручную и инкубируют в течение 10 мин в темноте при комнатной температуре.

С помощью пипеточного дозатора добавляют в каждую лунку по 100 мм^3 стоп-реагента и осторожно перемешивают вручную.

В течение 30 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке.

9.2.3 Проверку правильности анализа проводят по 9.1.3.3.

9.3 Проведение анализа при использовании тест-систем, подобных RIDASCREEN® Gliadin competitive или аналогов (см. приложение Б)

9.3.1 Подготовка проб к анализу

Пробы тщательно перемешивают и при необходимости ($5,00 \pm 0,01$) г гомогенизируют. В пробах продуктов, где глютен может быть распределен неравномерно, для обеспечения представительности анализа гомогенизируют минимум ($50,00 \pm 0,01$) г пробы.

9.3.2 Экстракция глиадина.

Твердые пробы (например, крахмал): в пробирке смешивают $(1,0000 \pm 0,0001)$ г гомогенизированной представительной пробы и 10 см^3 60 %-го раствора этанола (см. 8.3.5.2).

Твердые пробы, содержащие полифенольные соединения (например, хмель и солод): в пробирке смешивают $(1,0000 \pm 0,0001)$ г гомогенизированной представительной пробы и 10 см^3 рыбного желатина (см. 8.3.6).

Жидкие пробы (например, соевый соус): в пробирке смешивают 1 см^3 пробы и 9 см^3 60 %-го раствора этанола (см. 8.3.5.2).

Пиво: в пробирке смешивают 1 см^3 пива и 9 см^3 рыбного желатина (см. 8.3.6).

Пробирки хорошо закрывают крышками и встряхивают ≥ 30 сек на лабораторном шейкере типа Вортекс и в течение 10 мин на лабораторном шейкере (встряхивателе), переворачивая их.

Центрифугируют при $\geq 2500 \text{ g}$ в течение 10 мин при комнатной температуре.

Надосадов переносят в чистую пробирку с завинчивающейся крышкой. Экстракты можно хранить в плотно закрытых пробирках в течение 4 недель при комнатной температуре в темноте.

9.3.3. Проведение анализа

Воспроизводимость результатов иммуноферментного анализа существенно зависит от тщательности отмывки планшета в процессе анализа.

В процессе выполнения анализа не допускают высыхания лунок планшета.

На всех стадиях инкубации следует избегать воздействия прямого солнечного света. При инкубации рекомендуется прикрыть планшет крышкой.

9.3.4 Приготовление рабочих растворов исследуемых образцов

Экстракты из проб продуктов, полученные по 9.3.2, разбавляют готовым разбавляющим буфером (см. 8.3.2) в 50 раз.

Для анализа используется 50 мм^3 разбавленного раствора исследуемых образцов на лунку планшета.

9.3.5 Проведение испытаний

В рамку планшета необходимо вставить лунки в количестве, необходимом для выполнения всех запланированных определений в двух параллельных измерениях. Координаты лунок, предназначенных для стандартных растворов и подготовленных исследуемых растворов, записывают в таблицу.

С помощью пипеточного дозатора добавляют по 50 мм^3 стандартных и исследуемых растворов в соответствующие пары лунок.

С помощью пипеточного дозатора добавляют в каждую лунку по 50 мм³ готового раствора конъюгата (см. 8.3.3). Осторожно перемешивают вручную и оставляют на инкубацию в течение 30 мин при комнатной температуре.

По окончании сорбции проводят промывку планшета. Для этого удаляют жидкость из лунок встряхиванием перевернутого планшета и тщательно выбивают капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой.

Далее наполняют лунки 0,25 см³ буферного раствора для промывки (см. 8.3.4) и снова выливают жидкость. Выбивают капельки жидкости как описано выше и повторяют процедуру отмывки лунок моющим буферным раствором еще 2 раза.

С помощью пипеточного дозатора добавляют по 100 мм³ субстрата/хромогена в каждую лунку. Осторожно перемешивают вручную и инкубируют в течение 10 мин в темноте при комнатной температуре.

С помощью пипеточного дозатора добавляют в каждую лунку по 100 мм³ стоп-реагента и осторожно перемешивают вручную.

В течение 10 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке.

9.4 Проведение анализа при использовании тест-полосок, подобных RIDA[®] QUICK Gliadin или аналогов (см. приложение Б)

9.4.1 Подготовка к анализу

В зависимости от типа исследуемых материалов рекомендуются различные процедуры подготовки к анализу.

9.4.1.1 Сырье и пищевые продукты, не подвергавшиеся термической обработке

Жидкие образцы: смешивают в пробирке 1 см³ пробы и 9 см³ 60 %-го раствора этанола (см. 8.3.5.2). При исследовании соевого молока и продуктов, содержащих танины и полифенолы (например, шоколад, кофе, какао, каштановая мука, гречка, просо, специи в пробирку дополнительно добавляют (1,0000±0,0001) г обезжиренного сухого молока. Рекомендуется проверять сухое молоко на отсутствие примеси глютена с помощью тест-полосок для экспресс-определения глютена перед его внесением в образец или непосредственно во время опыта в качестве дополнительного образца. При положительных результатах сухое молоко следует заменить и повторить опыт. Пробирки встряхивают ≥30 сек на лабораторном шейкере типа Вортекс.

Мягкие образцы (кремы, соусы, мука, порошки): смешивают в пробирке (1,0000±0,0001) г представительной пробы и 10 см³ 60 %-го раствора этанола (см. 8.3.5.2). При исследовании продуктов, в состав которых входит соевое молоко, либо

продуктов, содержащих танины и полифенолы (например, шоколад, кофе, какао, каштановая мука, гречиха, пшено, специи в пробирку дополнительно добавляют $(1,0000 \pm 0,0001)$ г обезжиренного сухого молока. Рекомендуется проверять сухое молоко на отсутствие примеси глютена с помощью тест-полосок, для экспресс-определения глютена перед его внесением в образец или непосредственно во время опыта в качестве дополнительного образца. При положительных результатах сухое молоко следует заменить и повторить опыт. Пробирки встряхивают ≥ 30 сек на лабораторном шейкере типа Вортекс.

Твердые образцы: берут $(5,00 \pm 0,01)$ г твердого образца и тщательно гомогенизируют с помощью лабораторной мельницы, гомогенизатора или фарфоровой ступки с пестиком до порошкообразного состояния. Смешивают в пробирке $(1,0000 \pm 0,0001)$ г гомогенизированной пробы и 10 см^3 60 %-го раствора этанола (см. 8.3.5.2). Пробирки встряхивают ≥ 30 сек на лабораторном шейкере типа Вортекс.

Образцы с неоднородным распределением глютена (например, сосиски и другие мясные продукты): в образцах этого типа глютен или глиадин может быть распределен неравномерно, поэтому для повышения надежности результатов анализа рекомендуется увеличить навеску исследуемой пробы. $(20,00 \pm 0,01)$ г представительной пробы помещают в коническую колбу на 200 см^3 и добавляют 200 см^3 60 %-го раствора этанола (см. 8.3.5.2). Энергично встряхивают колбу в течение 30 сек и в течение 10 мин перемешивают, переворачивая колбу вверх-вниз. Отбирают 10 см^3 в чистую пробирку.

Приготовленные пробы образцов центрифугируют при $\geq 2500 \text{ g}$ в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем переносят верхний слой в чистую пробирку с завинчивающейся крышкой.

Эти пробирки можно хранить в плотно закрытых пробирках в течение 4 недель при комнатной температуре в темноте.

9.4.1.2 Продукты, подвергавшиеся термической обработке $>90 \text{ }^\circ\text{C}$

Подготовку проб к анализу и экстракцию из образцов глютена проводят по 9.1.1 - 9.1.2.

9.4.1.3 Исследование чистоты поверхности

Нижней частью тест-полоски протирают исследуемую поверхность размером примерно $10 \times 10 \text{ см}$.

9.4.2 Проведение анализа

9.4.2.1 В штатив устанавливают пробирки и подписывают в соответствии с исследуемыми пробами.

9.4.2.2 С помощью разовой пипетки в каждую пробирку вносят по 0,500 см³ готового буферного раствора (см. 8.3.2).

9.4.2.3 Затем вносят по 50 мм³ экстрактов (см. 9.4.1.1 и 9.4.1.2) в соответствующие пробирки и осторожно перемешивают.

9.4.2.4 В каждую пробирку вертикально опускают тест-полоски стрелками вниз, не ниже ограничивающей отметки.

9.4.2.5 Тест-полоски извлекают из пробирок через 5 мин и считывают результаты анализа.

9.4.3 Интерпретация результатов анализа.

9.4.3.1 Положительный результат - появление на мембране двух окрашенных полос (контрольная - полоса голубого цвета, аналитическая - красного). Интенсивность окрашивания красной полосы зависит от содержания глиаина в пробе. Положительный результат указывает, что в пробе сырья или пищевых продуктов содержится более 2,5 мг/кг глиаина (5 мг/кг глютена), а поверхность загрязнена глиадином (более 0,5 мкг глиаина на 100 см³).

Отрицательные результаты - появление на мембране только одной контрольной полосы голубого цвета.

Отсутствие аналитической полосы при анализе сырья и пищевых продуктов свидетельствует о том, что в исследуемой пробе сырья или пищевых продуктов содержится менее, чем 2,5 мг/кг глиаина (менее 5 мг/кг глютена), а поверхность не загрязнена глиадином (менее 0,5 мкг глиаина на 100 см³).

Результат считается недействительным, если на мембране отсутствует контрольная полоса голубого цвета.

9.4.3.2 Для документирования результатов анализа отрезают верхнюю часть полоски с надписью «Gluten», при этом реакции на мембране будут остановлены.

9.4.3.3 Для количественного определения используют наборы по 9.1 и 9.2.

9.5 Проведение анализа при использовании тест-систем, подобных ХЕМА «ГЛИАДИН-ИФА» или аналогов (см. приложение Б)

9.5.1 Подготовка образцов

Измельчают образец пищи. Твердые продукты (мука, крупа, отруби, макаронные изделия) измельчают с помощью ступки или блендера. Измельчение проводят до получения однородной массы. Тщательно промывают устройство для измельчения при анализе нескольких продуктов для предотвращения перекрестной контаминации.

Проводят экстракцию глиаина из исследуемых образцов пищи. Для этого смешивают полученную массу с 70 %-ным раствором этанола (см. 8.3.5.3) в соотношении 1:10 (вес/объем), например, $(1,0000 \pm 0,0001)$ г + 10 см³ 70 %-ного раствора этанола.

Затем инкубируют 30 мин при температуре от 20 °С до 25 °С при постоянном встряхивании. Далее центрифугируют экстракты при 200 g в течение 5 мин при комнатной температуре.

Отбирают надосадок в чистую пробирку. Полученные экстракты хранят в плотно закрытых пробирках или флаконах до 30 дней в морозильной камере при температуре не выше -15 °С до последующего анализа.

9.5.2 Проведение анализа

9.5.2.1 Приготовление рабочих растворов исследуемых образцов

Экстракты из проб продуктов, полученные по 9.5.1 разбавляют буферным раствором для разведения образцов (8.3.2) непосредственно перед внесением в лунки в 50 раз.

Для анализа используют 100 мм³ рабочего раствора исследуемых образцов на лунку планшета.

9.5.2.2 Проведение испытаний

В рамку планшета вставляют лунки в количестве, необходимом для выполнения всех запланированных определений в двух параллельных измерениях. Координаты лунок, предназначенных для стандартных проб и подготовленных исследуемых растворов, записывают в таблицу.

С помощью дозатора пипеточного добавляют по 100 мм³ стандартных и исследуемых растворов в соответствующие пары лунок в течение не более 15 мин. Аккуратно перемешивают содержимое лунок, заклеивают бумагой для заклеивания планшета и помещают планшет в термостат на 30 мин при 37 °С.

По окончании сорбции проводят промывку планшета. Для этого удаляют жидкость из лунок встряхиванием перевернутого планшета и тщательно выбивают капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Далее наполняют лунки 0,25 см³ буферного раствора для промывки (см. 8.3.4.2) и снова выливают жидкость. Выбивают капельки жидкости как описано выше и повторяют процедуру отмывки лунок моющим буферным раствором еще два раза.

С помощью дозатора пипеточного добавляют в каждую лунку по 100 мм³ готового раствора конъюгата (см. 8.3.3.2). Осторожно перемешивают вручную, заклеивают бумагой для заклеивания планшета и оставляют на инкубацию в течение 30 мин при комнатной температуре.

Далее вновь проводят промывку планшета как указано выше, но уже пять раз.

С помощью дозатора пипеточного добавляют по 100 мм³ субстратного раствора тетраметилбензидина в каждую лунку. Осторожно перемешивают вручную и инкубируют в течение 10-20 мин в темноте при комнатной температуре в зависимости от степени развития синего окрашивания.

С помощью дозатора пипеточного добавляют в каждую лунку по 100 мм³ стоп-реагента и осторожно перемешивают вручную.

В течение 15 мин после добавления стоп-реагента измеряют оптическую плотность в каждой лунке.

9.5.2.3 Для проверки правильности анализа рекомендуется использовать контрольные образцы: отрицательный контроль - не содержит глиаина, и два положительных контроля с разным, сертифицированным содержанием глиаина. Образцы готовят согласно 9.5.1.

9.6 Проведение анализа при использовании тест-полосок, подобных «ХЕМАТест ГЛЮТЕН» или аналогов (см. приложение Б)

9.6.1 Подготовка к анализу

В зависимости от типа исследуемых материалов рекомендуются различные процедуры подготовки к анализу.

9.6.1.1 Твердые вещества

Отделяют небольшой фрагмент продукта по диаметру пробирки для экстракции, используя чистый шпатель; помещают материал в пробирку для экстракции до линии, напечатанной на этикетке (примерно $(0,5000 \pm 0,0001)$ г. С помощью шпателя или другого инструмента максимально измельчают образец.

Добавляют в пробирку подготовленный буфер для экстракции образца до риски «5 ml». Тщательно завинчивают крышку пробирки и энергично встряхивают ее 30 сек.

Ставят пробирку на стол и дают осесть частицам. Если экстракт густой и мутный, образцу дают отстояться в течение длительного периода (до 1 ч). Если полученный экстракт содержит взвешенные частицы, его осветляют фильтрованием (например, через ткань или бумажный фильтр) или центрифугируют. Экстрагированные образцы хранят при температуре от 10 °С до 25 °С в течение 24 ч. При необходимости длительного хранения экстракты хранят в морозильной камере (при температуре ниже -15 °С) в течение 1 месяца.

9.6.1.2 Жидкости

Жидкие образцы (бульон, напитки, смывы, экстракты) могут быть проанализированы непосредственно. Ограничением является вязкость образца (особенно бульона) и

наличие в жидкости взвешенных частиц. Обязательно учитывается фактор разведения при оценке чувствительности теста!

Жидкий образец тщательно перемешивают в его оригинальной упаковке и наливают исследуемый образец в пробирку для экстракции до линии, напечатанной на этикетке (примерно 0,5 см³).

Добавляют в пробирку подготовленный буфер для экстракции образца до риски «5 ml». Тщательно завинчивают крышку пробирки и энергично встряхивают ее 30 сек.

Ставят пробирку на стол и дают осесть частицам. Если экстракт густой и мутный, образцу дают отстояться в течение длительного периода (до 1 ч). Если полученный экстракт содержит взвешенные частицы, его осветляют фильтрованием (например, через ткань или бумажный фильтр) или центрифугируют. Экстрагированные образцы хранят при температуре от 10 °С до 25 °С в течение 24 ч. При необходимости длительного хранения экстракты хранят в морозильной камере (при температуре ниже -15 °С) в течение 1 месяца.

9.6.1.3 Исследование чистоты поверхности

Помещают 1 см³ подготовленного буфера для экстракции образца в пробирку для экстракции, ориентируясь на первую отметку на стенке пробирки или используя дозатор.

Помещают инструмент для получения смыва (например, ватную палочку) в пробирку с буфером для полного смачивания.

Удаляют излишки жидкости, прижимая инструмент к стенке пробирки.

Обрабатывают исследуемые поверхности смоченным в буфере инструментом, уделяя особое внимание местам предполагаемого «загрязнения».

Помещают тампон обратно в пробирку с остатками буфера. Тщательно завинчивают крышку пробирки и энергично встряхивают ее 15–30 секунд. Допускается использование вихревого смесителя.

Извлекают тампон из пробирки. Ставят пробирку на стол и дают осесть частицам. Если экстракт густой и мутный, образцу дают отстояться в течение длительного периода (до 1 ч). Если полученный экстракт содержит взвешенные частицы, его осветляют фильтрованием (например, через ткань или бумажный фильтр) или центрифугируют. Экстрагированные образцы хранят при температуре от 10 °С до 25 °С в течение 24 ч. При необходимости длительного хранения экстракты хранят в морозильной камере (при температуре ниже -15 °С) в течение 1 месяца.

9.6.2 Проведение анализа

Для проведения определения с нижним пределом обнаружения 2 мг/кг с помощью одноразовой пипетки переносят четыре капли (или 0,1 см³) экстракта из пробирки для экстракции в пробирку для анализа и тщательно перемешивают встряхиванием.

Для проведения определения с нижним пределом обнаружения 20 мг/кг с помощью той же одноразовой пипетки переносят 8 капель (или 0,2 см³) содержимого из первой пробирки для анализа во вторую пробирку для анализа, снова тщательно перемешивают содержимое пробирки встряхиванием и проводят тест во второй пробирке, следуя инструкции ниже.

Открывают пакет с тест-полоской, стараясь не повредить ее. Опускают тест-полоску в жидкость на 20-30 сек, не прикасаясь к осадку на дне.

Кладут полоску горизонтально на чистую поверхность; не трогают и не перемещают полоску. Считывать результат можно через 5–10 мин после погружения полоски в образец.

9.6.3 Интерпретация результатов анализа

9.6.3.1 Положительный результат - появление на мембране двух окрашенных полос (контрольной и тестовой). Интенсивность окрашивания тестовой полосы зависит от содержания глиаина в пробе. Положительный результат указывает, что в пробе сырья или пищевых продуктов содержится глиаин выше предела чувствительности теста, а поверхность загрязнена глиадином.

Отрицательные результаты - появление на мембране только контрольной полосы. Отсутствие тестовой полосы при анализе сырья и пищевых продуктов свидетельствует о том, что в исследуемой пробе сырья или пищевых продуктов содержится глиаина ниже предела чувствительности теста, а поверхность не загрязнена глиадином.

Результат считается *недействительным*, если на мембране отсутствует контрольная полоса.

9.6.4 Для количественного определения используют набор 9.5.

10 Обработка и оформление результатов

10.1 Инструментальный учет реакции проводят путем измерения оптической плотности на вертикальном фотометре при длине волны 450 нм ("бланк" или нулевое считывание по воздуху).

Результаты записей оптической плотности переносят в таблицу и располагают в соответствии с номерами образцов.

10.2 Оптическая плотность в лунке с нулевым стандартом не должна быть больше 0,15, в противном случае это свидетельствует о недостаточной отмывке планшета или о контаминации.

В случае если величина оптической плотности, измеренной в лунке с 6-м стандартом тест-системы, подобной RIDASCREEN® Gliadin или аналогов (см. приложение Б), не превышает 0,6, это является признаком порчи реагентов.

В случае, если величина оптической плотности, измеренной в лунке с 5-м стандартом тест-системы, подобной RIDASCREEN® FAST Gliadin или аналогов (см. приложение Б), не превышает 0,6, это является признаком порчи реагентов.

В случае, если величина оптической плотности, измеренной в лунке с 1-м стандартом тест-системы RIDASCREEN® Gliadin competitive или аналогов (см. приложение Б) ниже 0,8, это является признаком порчи реагентов.

В случае, если полученные результаты для тест-системы, подобной ХЕМА «ГЛИАДИН-ИФА» или аналогов (см. приложение Б), выходят за границы значений, указанных в параметрах контроля качества паспорта набора, это является признаком порчи реагентов.

10.3 Вычисляют средние значения оптической плотности стандартных и исследуемых растворов. Вычисленные средние значения оптической плотности стандартных и исследуемых растворов делят на вычисленное среднее значение оптической плотности нулевого стандарта и умножают на 100 %:

$$ОП = \frac{ОП_i}{ОП_0} \times 100, \quad (1)$$

где ОП - значение оптической плотности, выраженное в процентах от оптической плотности нулевого стандарта, % поглощения;

ОП_i - средние значения оптической плотности стандартных и исследуемых растворов;

ОП₀ - среднее значение оптической плотности нулевого стандарта.

10.4 Когда оптическая плотность, измеренная в лунках с исследуемыми растворами, превышает значение 2,0 или находится в районе максимальной концентрации по градуировочной характеристике, то экстракты таких образцов разбавляют и анализируют заново (учитывая фактор разбавления). Для этого разбавляют экстракт, полученный по 9.1.2, еще раз в соотношении 1:12,5 разбавляющим буферным раствором (см. 8.3.2) как описано в разделе 9.1.3.1. Затем дополнительно разбавляют экстракт образца следующей смесью: 2% - коктейль; 6% - 80% раствор этанола; 92% - разбавляющий буферный раствор, что соответствует, например, 100 мм³ коктейля, 300 мм³ 80% этанола и 4600 мм³ разбавляющего буферного раствора.

10.5 По результатам средних значений оптической плотности, вычисленным для стандартных растворов и соответствующим значениям концентрации в них глиаина (мкг/дм^3), строят градуировочный график в полулогарифмической системе координат.

10.6 По двум параллельным определениям рассчитывают среднее арифметическое значение оптической плотности в исследуемом образце и считывают по градуировочной характеристике концентрацию глиаина (мкг/дм^3).

10.7 Для того, чтобы вычислить концентрацию глиаина в исследуемой исходной пробе (мкг/кг) (ppb), величину концентрации глиаина, полученную по градуировочной характеристике, умножают на соответствующий фактор разбавления.

При выполнении пробоподготовки и анализа в полном соответствии с приведенной методикой фактор разбавления равен 500.

В глютене содержится около 50 % глиаина. При необходимости оценки содержания глютена в пробе (мкг/кг) результат определения глиаина умножают на 2.

10.8 Результат вычислений округляют до первого значащего знака после запятой.

Результат анализа представляют в виде (при вероятности $P = 0,95$):

для тест-систем, подобных RIDASCREEN[®] Gliadin, RIDASCREEN[®] FAST Gliadin, RIDASCREEN[®] Gliadin competitive: $C_{\text{ср.}} \pm \Delta$, где $C_{\text{ср.}}$ - среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг (мг/дм^3) глютена; Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг (мг/дм^3) глютена (таблица 1, показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций).

10.9 Для тест-систем, подобных RIDA[®] QUICK Gliadin: при положительном результате анализа указывают «содержание глютена в пробе более 5 мг/кг ».

10.10 В случае, если содержание глютена в пробе меньше нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

– для тест-систем, подобных RIDASCREEN[®] Gliadin – «содержание глютена в пробе менее 5 мг/кг (мг/дм^3)»;

– для тест-систем, подобных RIDASCREEN[®] FAST Gliadin – «содержание глютена в пробе менее 10 мг/кг (мг/дм^3)»;

– для систем, подобных RIDASCREEN[®] Gliadin competitive – «содержание глютена в пробе менее 10 мг/кг (мг/дм^3)»;

– для тест-полосок, подобных RIDA[®] QUICK Gliadin – «содержание глютена в пробе менее 5 мг/кг (мг/дм^3)»;

– для тест-систем, подобных ХЕМА «ГЛИАДИН-ИФА» – «содержание глютена в пробе менее 2,5 мг/кг (мг/дм^3)»;

– для тест-полосок, подобных ХЕМАТест ГЛЮТЕН – «содержание глютена в пробе менее 2 мг/кг».

11 Метрологические характеристики метода

Метрологические параметры метода охарактеризованы в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений.

Часть 6 Использование значений точности на практике»* и приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Метрологические характеристики метода

Метрологические характеристики	Тест-система RIDASCREEN® Gliadin			Тест-система RIDASCREEN® FAST Gliadin			Тест-система RIDASCREEN® Gliadin competitive			Тест-система ХЕМА «ГЛИАДИН-ИФА»
	3,0-15,0	15,0-40,0	40,0-80,0	4,0-15,0	15,0-40,0	40,0-80,0	5,0-15,0	15,0-90,0	90,0-270,0	
	Диапазон измерений концентрации глютена, мг/кг (мг/дм ³)									
	3,0-15,0	15,0-40,0	40,0-80,0	4,0-15,0	15,0-40,0	40,0-80,0	5,0-15,0	15,0-90,0	90,0-270,0	2,0-100,0
Полнота извлечения вещества, %	Не менее 90									
Показатель точности, $\pm \Delta$, мг/кг (мг/дм ³), $P=0,95$	0,7	4,0	6,0	0,9	5,0	6,0	0,8	3,9	7,0	0,01-30
Предел повторяемости, $r_{отн.}$, мг/кг	0,7	2,3	3,0	0,8	2,4	3,2	0,7	3,2	5,6	0,01-28
Предел воспроизводимости, $R_{отн.}$, мг/кг	0,8	2,5	3,1	0,9	2,9	3,6	0,8	3,8	5,9	0,02-42

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

Приложение А
(справочное)

Информация о применяемых технических регламентах и нормативных правовых актах в государствах-участниках СНГ

Информация о применяемых технических регламентах и нормативных правовых актах в государствах-участниках СНГ приведена в таблице А.1.

Таблица А.1

Структурный элемент	Наименование технического регламента или нормативного правового акта	Государство-участник СНГ
3.3, 3.4	Технический регламент Таможенного союза «О безопасности отдельных видов специализированной пищевой продукции, в том числе диетического лечебного и диетического профилактического питания» ТР ТС 027/2012	AM, BY, KZ, KG, RU
5	Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011)	AM, BY, KZ, KG, RU

Приложение Б
(рекомендуемое)

Тест-система «RIDASCREEN® Gliadin»

В тест-систему входят:

- микротитровальный планшет на 96 лунок (12x8), сенсibilизированных антителами R5 к глиадину;
- комплект стандартных растворов* глиадина со следующими концентрациями: 0 мкг/дм³, 5 мкг/дм³, 10 мкг/дм³, 20 мкг/дм³, 40 мкг/дм³, 80 мкг/дм³, по 1,3 см³ каждого;
- раствор конъюгата моноклональных антител R5 к глиадину с пероксидазой, концентрированный, 1,2 см³;
- пероксид карбамида (субстрат), 7 см³;
- тетраметилбензидин (С.А.С. № 54827-17-7) (хромоген), 7 см³;
- 1 н серная кислота (стоп-реагент), 14 см³;
- концентрат разбавляющего буферного раствора (5-кратный) рН 7,4, объемом 60 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, 2,6 г; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245, 0,9 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,3 г; Твин-20¹, 1,0 см³;
- концентрат буферного раствора для промывки (10-кратный) рН 7,1, объемом 100 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, 9,0 г; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245, 0,3 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,95 г; Твин-20¹, 1,0 см³.

В состав набора входят материалы и реагенты в количестве, достаточном для выполнения 96 определений (включая калибровку по стандартным растворам). Реагенты в составе одного набора не заменяют реагентами из другого набора с другим номером партии. Разбавление или замена реагентов недопустима, т.к. приводит к потере чувствительности.

Набор хранят при температуре 2-8 °С, не замораживают. Перед использованием набора температуру всех реагентов и подготовленных для анализа растворов доводят до комнатной (около 1,5-2,0 ч). После использования все оставшиеся реагенты немедленно охлаждают до температуры 2-8 °С. Число повторных охлаждений ограничено сроком

* Стандартные растворы откалиброваны по стандарту рабочей группы Prolamin (PWGGliadin),

<http://www.wgpat.com/handling.html>

¹ Фирма Мерск, Германия, кат. N 822184.

годности набора.

Набор с истекшим сроком годности не используют. Неиспользованные стрипы (лунки) хранят в оригинальном фольгированном пакете вместе с имеющимся осушителем. Избегают попадания прямых солнечных лучей на флакон с раствором хромогена. Избегают контакта с кожей стоп-реагента, который содержит в своем составе серную кислоту.

В случае окрашивания раствора хромогена его не используют, поскольку окрашивание раствора является признаком его порчи.

Тест-система «RIDASCREEN® FAST Gliadin»

В тест-систему входят:

– микротитровальный планшет на 48 лунок (6x8), сенсibiliзирoванных антителами R5 к глиадину;

– комплект стандартных растворов* глиадина со следующими концентрациями: 0 мкг/дм³, 10 мкг/дм³, 20 мкг/дм³, 40 мкг/дм³, 80 мкг/дм³, по 1,3 см³ каждого;

– раствор конъюгата антител R5 с пероксидазой, концентрированный, 0,7 см³;

– пероксид карбамида/тетраметилбензидин (C.A.S. № 54827-17-7). (субстрат/хромоген), 10 см³;

– 1 н серная кислота (стоп-реагент), 14 см³;

– концентрат разбавляющего буферного раствора (5-кратный) рН 7,4, объемом 60 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, 2,6 г; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245, 0,9 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,3 г; Твин-20¹, 1,0 см³;

– концентрат буферного раствора для промывки (10-кратный) рН 7,1, объемом 100 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, 9,0 г; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245, 0,3 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,95 г; Твин-20¹, 1,0 см³.

В состав набора входят материалы и реагенты в количестве, достаточном для выполнения 48 определений (включая калибровку по стандартным растворам). Реагенты в составе одного набора не заменяют реагентами из другого набора с другим номером партии. Разбавление или замена реагентов недопустима, т.к. приводит к потере чувствительности.

Набор хранят при температуре 2-8 °С, не замораживают.

* Стандартные растворы откалиброваны по стандарту рабочей группы Prolamin (PWGGliadin), <http://www.wgpat.com/handling.html>

¹ Фирма Merck, Германия, кат. N 822184.

Перед использованием набора температуру всех реагентов и подготовленных для анализа растворов доводят до комнатной (около 1,5-2,0 ч). После использования все оставшиеся реагенты немедленно охлаждают до температуры 2-8 °С. Число повторных охлаждений ограничено сроком годности набора.

Набор с истекшим сроком годности не используют. Неиспользованные стрипы (лунки) хранят в оригинальном фольгированном пакете вместе с имеющимся осушителем. Избегают попадания прямых солнечных лучей на флакон с раствором хромогена. Избегают контакта с кожей стоп-реагента, который содержит в своем составе серную кислоту.

В случае окрашивания раствор хромогена не используют, поскольку окрашивание раствора является признаком его порчи.

Тест-система «RIDASCREEN® Gliadin competitive»

В тест-систему входят:

- микротитровальный планшет на 96 лунок (12x8), сенсibiliзирoванных антителами R5 к глиадину;
- комплект стандартных растворов* глиадинa со следующими концентрациями: 0 нг/дм³, 10 нг/дм³, 30 нг/дм³, 90 нг/дм³, 270 нг/дм³, по 1,3 см³ каждого;
- раствор конъюгата антител с пероксидазой, концентрированный, 0,7 см³;
- пероксид карбамида/тетраметилбензидин (С.А.С. № 54827-17-7). (субстрат/хромоген), 10 см³;
- 1 н серная кислота (стоп-реагент), 14 см³;
- концентрат разбавляющего буферного раствора (5-кратный) рН 7,4, объемом 60 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, 2,6 г; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245, 0,9 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,3 г; Твин-20¹, 1,0 см³;
- концентрат буферного раствора для промывки (10-кратный) рН 7,1, объемом 100 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, 9,0 г; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245, 0,3 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,95 г; Твин-201, 1,0 см³.

* Стандартные растворы откалиброваны по стандарту рабочей группы Prolamin (PWG Gliadin), <http://www.wgpat.com/handling.html>

¹ Фирма Merck, Германия, кат. N 822184.

В состав набора входят материалы и реагенты в количестве, достаточном для выполнения 96 определений (включая калибровку по стандартным растворам). Реагенты в составе одного набора не заменяют реагентами из другого набора с другим номером партии. Разбавление или замена реагентов недопустима, т.к. приводит к потере чувствительности.

Набор хранят при температуре 2-8 °С, не замораживают. Перед использованием набора температуру всех реагентов и подготовленных для анализа растворов доводят до комнатной (около 1,5-2 ч). После использования все оставшиеся реагенты немедленно охлаждают до температуры 2-8 °С. Число повторных охлаждений ограничено сроком годности набора.

Набор с истекшим сроком годности не используют. Неиспользованные стрипы (лунки) хранят в оригинальном фольгированном пакете вместе с имеющимся осушителем. Избегают попадания прямых солнечных лучей на флакон с раствором хромогена. Избегают контакта с кожей стоп-реагента, который содержит в своем составе серную кислоту.

В случае голубого окрашивания раствор хромогена не используют, поскольку окрашивание раствора является признаком его порчи.

Тест-полоски «RIDA® QUICK Gliadin»

В набор тест-полосок входят:

- тест-полоски (по одной на каждое определение), 25 шт.;
- разовые пипетки, 25 шт.;
- пробирки, 30 шт.;

– концентрат разбавляющего буферного раствора (5-кратный) pH 7,4, объемом 60 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, 2,6 г; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245, 0,9 г; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,3 г; Твин-20¹, 1,0 см³.

В состав набора входят материалы и реагенты в количестве, достаточном для выполнения 25 определений. Реагенты в составе одного набора не заменяют реагентами из другого набора с другим номером партии. Разбавление или замена реагентов недопустима, т.к. приводит к потере чувствительности. Набор хранят при температуре 2-8 °С, не замораживают. Перед использованием набора температуру всех реагентов и подготовленных для анализа растворов доводят до комнатной (около 1,5-2,0 ч). Число повторных охлаждений ограничено сроком годности набора. Набор с истекшим сроком годности не используют. Неиспользованные тест-полоски упаковывают в оригинальный контейнер и хранят в закрытом контейнере при комнатной температуре (20-25 °С)

¹ Фирма Мерск, Германия, кат. N 822184.

в сухом месте. Срок годности тест-полосок нанесен на этикетку, тест-полоски с истекшим сроком годности не используют.

Тест-система ХЕМА «ГЛИАДИН-ИФА»

В тест-систему входят:

- микротитровальный планшет на 96 лунок (12x8), сенсibilизированных антителами к глиадину;
- комплект стандартных растворов* глиадин со следующими концентрациями: 0 мкг/дм³, 5 мкг/дм³, 20 мкг/дм³, 40 мкг/дм³, 80 мкг/дм³ по 1,0 см³ каждого;
- раствор конъюгата антител с пероксидазой, концентрированный объемом 0,25 см³ содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245; натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773; Твин-20, казеинат натрия;
- буферный раствор для разведения образцов объемом 50 см³, содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245; натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773; Твин-20, краситель;
- буферный раствор для разведения концентрата конъюгата объемом 12 см³ содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245; натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773; Твин-20, краситель;
- субстратный раствор тетриметилбензидина (С.А.С. № 54827-17-7), 14 см³;
- серная кислота по ГОСТ 4204 (стоп-реагент), 14 см³;
- буферный раствор для промывки, концентрированный объемом 22 см³ содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233, Твин-20, кислоту бензойную по ГОСТ 10521.

В состав набора входят материалы и реагенты в количестве, достаточном для выполнения 96 определений (включая калибровку по стандартным растворам). Реагенты в составе одного набора не заменяют реагентами из другого набора с другим номером партии. Разбавление или замена реагентов недопустима, т.к. приводит к потере чувствительности.

Набор хранят при температуре 2-8 °С, не замораживают. Перед использованием набора температуру всех реагентов и подготовленных для анализа растворов доводят до комнатной (около 1,5-2,0 ч). После использования все оставшиеся реагенты немедленно

охлаждают до температуры 2-8 °С. Число повторных охлаждений ограничено сроком годности набора.

Набор с истекшим сроком годности не используют. Неиспользованные стрипы (лунки) заклеивают входящей в комплект набора бумагой для заклеивания планшета и хранят вместе с остальными компонентами. Избегают попадания прямых солнечных лучей на флакон с субстратным раствором. Избегают контакта с кожей стоп-реагента, который содержит в своем составе серную кислоту.

В случае окрашивания субстратного раствора его не используют, поскольку окрашивание раствора является признаком его порчи.

* Стандартные растворы откалиброваны по Европейскому стандартному образцу на глиадин (European Reference Gliadin Standard)

Тест-полоски «ХЕМАТест ГЛЮТЕН»

В набор тест-полосок входят:

- тест-полоски (по одной на каждое определение) в пакетике с осушителем, 20 шт.;
- пробирки для экстракции, 20 шт.;
- буферный раствор для экстракции образца, концентрат, 2 шт. объемом 18 см³ содержащий натрий хлористый по ГОСТ 4233; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773; Твин-20, краситель;
- одноразовые пипетки, 40 шт.;
- пробирки для анализа, содержащие буферный раствор для анализа, 40 шт. объемом 2 см³ каждая, содержащие натрий хлористый по ГОСТ 4233; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245; натрий фосфорнокислый двузамещенный 2-водный по ГОСТ 11773, 0,3 г; Твин-20, краситель;

В состав набора входят материалы и реагенты в количестве, достаточном для выполнения 20 определений. Реагенты в составе одного набора не заменяют реагентами из другого набора с другим номером партии. Разбавление или замена реагентов недопустима, т.к. приводит к потере чувствительности.

Набор хранят при температуре 10-30 °С, не замораживают. Перед использованием набора температуру всех реагентов и подготовленных для анализа растворов доводят до комнатной (около 1,5-2,0 ч). Число повторных охлаждений ограничено сроком годности набора.

Набор с истекшим сроком годности не используют. Срок годности тест-полосок нанесен на этикетку.

УДК 664.7:616.34:57.083.3

МКС 67.040

Ключевые слова: глютен, глиадин, проламины, специализированная пищевая продукция диетического лечебного или диетического профилактического питания, продукты безглютеновые, продукты с низким содержанием глютена, иммуноферментный анализ

Сведения о разработчике:

Разработчик межгосударственного стандарта – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»).

Юридический адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д.2/14.

Тел./факс: +7 (495) 698-53-30

E-mail: mailbox@ion.ru, tashenka13@inbox.ru

Руководитель организации – разработчика:
Директор ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», академик РАН, профессор,
д.м.н.



(подпись)

Д.Б. Никитюк

Руководитель разработки:
Заведующий лаборатории возрастной нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», к.м.н.

(подпись)

Е.А.Пырьева

Исполнитель:
Ведущий научный сотрудник лаборатории возрастной нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», д.б.н.

(подпись)

Н.М.Шилина