



Республика Молдова

ПРАВИТЕЛЬСТВО

ПОСТАНОВЛЕНИЕ Nr. 844
от 25.10.2017

**о внесении изменений и дополнений
в Постановление Правительства № 686
от 13 сентября 2012 года**

Опубликован : 03.11.2017 в Monitorul Oficial Nr. 383-388 статья № : 966

Правительство ПОСТАНОВЛЯЕТ:

В Постановление Правительства № 686 от 13 сентября 2012 года «Об утверждении некоторых методов анализа по контролю за кормами» (Официальный монитор Республики Молдова, 2012 г., № 198-204, ст. 741), с последующими изменениями, внести следующие изменения и дополнения:

1) в преамбуле постановления текст «В соответствии с положениями Закона о ветеринарно-санитарной деятельности № 221-XVI от 19 октября 2007 года (Официальный монитор Республики Молдова, 2008 г., № 51-54, ст. 153), с последующими изменениями и дополнениями, а также в целях практического применения положений Регламента Европейской комиссии № 152/2009/СЕ от 27 января 2009 года, устанавливающего методы взятия образцов и анализа для официального контроля за кормами, опубликованного в Официальном журнале Совета Европы серия L 54 от 26 февраля 2009 г., в национальной нормативной базе» заменить текстом: «В соответствии с положениями статьи 36 Закона № 221-XVI от 19 октября 2007 года о ветеринарно-санитарной деятельности (повторное опубликование: Официальный монитор Республики Молдова, 2013 г., № 125-129, ст. 396), с последующими изменениями и дополнениями, а также в целях переложения положений Регламента № 152/2009/СЕ от 27 января 2009 года, устанавливающего методы взятия образцов и анализа для официального контроля за кормами, опубликованного в Официальном журнале Европейского союза серия L № 54 от 26 февраля 2009 г., стр. 1, в национальной нормативной базе,»;

2) в пункте 1 текст «Методы отбора проб для официального контроля кормов по определению компонентов, добавок и нежелательных веществ, за исключением остатков пестицидов и микроорганизмов, согласно приложению № 1» заменить текстом «Методы отбора проб для официального контроля кормов с целью

определения компонентов, включая материалы, которые содержат, состоят или были произведены из генетически модифицированных организмов, добавок для кормов животных, нежелательных веществ и остатков пестицидов, согласно приложению № 1»;

3) приложения № 1, 2, 5, 6 изложить в следующей редакции:

[апеха](#)

[nr.1](#)

«Приложение № 1

к Постановлению Правительства

№ 686 от 13 сентября 2012 г.

МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

для официального контроля кормов с целью определения компонентов, включая материалы, которые содержат, состоят или были произведены из генетически модифицированных организмов, добавок для животных кормов, нежелательных веществ и остатков пестицидов

1. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящем нормативном акте используемые определения имеют следующие значения:

партия – идентифицируемое количество кормов, имеющих подтвержденные определенные общие характеристики, такие как происхождение, сорт, тип упаковки, и одного и того же упаковщика, отправителя или маркировщика, а в случае производственного процесса - единицу продукции, происходящую от одной и той же установки, применяющей единообразные производственные параметры, или несколько таких единиц, при непрерывном производстве и совместном хранении;

отборная партия – количество продукта, представляющего собой одно целое и имеющего характеристики, предполагающие его однородность;

опломбированная проба – проба, опломбированная таким образом, чтобы воспрепятствовать любому доступу к пробе, без того, чтобы разрушить или устранить пломбу;

совокупная проба – комбинация обычных проб, отобранных из той же отборной партии;

лабораторная проба – проба, предназначенная для лаборатории, таким образом, как она была получена лабораторией, и может быть конечной, уменьшенной или совокупной;

обычная проба – количество, отобранное из одной точки отборной партии;

общая проба – совокупность обычных проб, отобранных из одной однородной партии;

уменьшенная проба – представительная часть общей пробы, полученная из нее путем сокращения;

конечная проба – часть из уменьшенной или из общей гомогенизированной пробы.

2. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

Пробы, предназначенные для официального контроля кормов, отбираются официальным ветеринарным врачом, практический опыт которого составляет не менее 2 лет.

Проба должна быть опломбирована таким образом, чтобы воспрепятствовать любому доступу к пробе, без того чтобы разрушить или устранить пломбу. Маркировка пломбы должна

идентифицироваться четко и быть видимой. В качестве альтернативы проба может быть помещена в емкость, которая должна быть закрыта таким образом, чтобы ее невозможно было открыть без того, чтобы окончательно не повредить емкость, избегая повторное использование емкости.

Для идентификации исследуемой пробы на каждой пробе указана нестираемая маркировка, которая должна идентифицироваться таким образом, чтобы в существующей связи отсутствовала двусмысленность по отношению к отбору проб.

Из каждой совокупной пробы отбираются две конечные пробы: одна для контроля и одна для оператора сектора кормов для животных. В итоге, может быть отобрана конечная проба для отзыва. В случае если полная совокупная проба гомогенизируется, конечные пробы отбираются из гомогенизированной совокупной пробы, за исключением случая, когда данная процедура противоречит регламентациям относительно права предпринимателя сектора кормов для животных.

2.1. Измерительные приборы

Оборудование для отбора проб должно быть изготовлено из материалов, не загрязняющих продукты, подлежащие отбору пробы.

Оборудование, предназначенное для многоразового использования, должно легко чиститься во избежание перекрестного заражения.

Данное оборудование, за исключением оборудования, которое описано в пункте 2.2.1., должно быть проверено Национальным институтом метрологии.

2.2. Оборудование, рекомендованное для отбора проб сухих кормов

2.2.1. Ручной отбор

Для ручного отбора используется плоская с вертикальным краями лопата и зонд для отбора проб с длинной или разделенной щелью.

Размеры зонда для отбора проб должны быть характерны отборной партии, с учетом глубины емкости, размера мешка и размера частиц корма.

В случае если у зонда для отбора имеется несколько отверстий для обеспечения того, что проба отобрана в различных местах вдоль зонда, отверстия должны быть отделены многоступенчатыми разделами или отверстиями.

2.2.2. Механический отбор

Для отбора проб из кормов, находящихся в движении, может быть использовано проверенное механическое оборудование.

Отбор проб из кормов, находящихся в движении, по высоким дебетовым ставкам может производиться автоматическим оборудованием.

2.2.3. Разделитель

Оборудование, предназначенное для разделения пробы на две приблизительно равные части может быть использовано для отбора обычных проб и подготовки уменьшенных и конечных проб.

3. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ТРЕБОВАНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО ОБЫЧНЫХ ПРОБ

3.1. Общие сведения об отборе

Размер партии отбора проб должен позволять отбор проб для каждой составной части. В рамках системы обязательного мониторинга допускаются некоторые отклонения только с согласия Национального агентства по безопасности пищевых продуктов от количественных

требований, предусмотренных в настоящей главе, требуемых для учета операционных характеристик, при условии, что предприниматель сектора кормов для животных может ясно продемонстрировать равнозначность процедуры отбора проб в том, что касается ее представительности.

3.2. Количественные требования относительно обычных проб, связанных с контролем веществ или продуктов, равномерно распределенных в кормах.

3.2.1. Корма россыпью и минимальное количество обычных проб:

1) для отборных партий, не превышающих 2,5 метрической тонны – минимум семь обычных проб;

2) для отборных партий, превышающих 2,5 метрической тонны – 20 умножить на количество метрических тонн, составляющих отборную партию. В случае если полученное число является дробью, оно округляется до ближайшего целого числа, до максимального количества – 40 отборных обычных проб.

3.2.2. Жидкие корма россыпью и минимальное количество обычных проб:

1) для отборных партий, не превышающих 2,5 метрической тонны или 2500 литров – минимум четыре обычные пробы;

2) для отборных партий, превышающих 2,5 метрической тонны или 2500 литров – минимум семь обычных проб.

В случае если невозможно получить гомогенизацию жидкости, количество отборных проб увеличивается.

3.2.3. Упакованные корма и минимальное количество обычных проб:

1) для отборных партий от 1 до 20 единиц – по крайней мере, одна обычная проба;

2) для отборных партий от 21 до 150 единиц – по крайней мере, три обычные пробы;

3) для отборных партий от 151 до 400 единиц – по крайней мере, пять отобранных проб;

4) для партий, превышающих 400 единиц, – 1/4 количества единиц, составляющих отобранную партию, до 40 обычных единиц.

Твердые и жидкие корма могут быть упакованы в пакеты, мешки, металлические коробки, баки, которые указаны в таблице в качестве единиц. Большие единицы (≥ 500 кг или литров) должны быть отобраны в соответствии с положениями, предусмотренными для кормов россыпью, согласно пунктам 3.2.1 и 3.2.2 настоящего приложения.

3.2.4. Блоки кормов и минеральные брикеты с минимальным количеством блоков или брикетов отобранных проб

Минимум один блок или брикет должен быть отобран в каждой отборной партии из 25 единиц, максимум до четырех блоков или брикетов.

В случае блоков или брикетов, каждый из которых не превышает 1 кг, одна обычная проба представляет собой содержание одного блока или одного брикета.

3.2.5. Грубые корма/корм:

1) для отборных партий, не превышающих 5 тонн, – минимум пять обычных проб;

2) для отборных партий, превышающих 5 тонн, – 5 умножить на количество тонн, составляющих отборную партию, до 40 обычных проб.

3.2.6. Количественные требования относительно обычных отборных проб, связанных с контролем веществ, которые могут быть неравномерно распределены в массовой доле кормов

Количественные требования относительно обычных проб должны быть использованы в следующих ситуациях:

- 1) контроль афлатоксинов, спорыньи, других микотоксинов и вредных ботанических загрязнений в кормовом сырье;
- 2) контроль перекрестного заражения посредством компонента, в том числе ГМ материала, или вещества, для которого предусмотрено неравномерное распределение в кормовом сырье.

В случае если Национальное агентство по безопасности пищевых продуктов подозревает возникновение подобного неравномерного распределения и в случае перекрестного заражения посредством компонента или вещества в комбикорме, применяются следующие количественные требования:

- a) для отборной партии, не превышающей 5 тонн, – по меньшей мере, 12 обычных проб;
- b) для отборных партий с 5 до 80 тонн – 5 умножить на количество тонн, составляющих отборную партию, до 80 обычных проб;
- c) для отборной партии, превышающей с 80 тонн до 100 обычных проб.

3.2.7. Количественные требования относительно совокупной пробы Совокупная проба представляет собой отборную партию, а их минимальный объем составляет:

- 1) корма россыпью – 4 кг;
- 2) упакованные корма – 4 кг;
- 3) жидкие и полужидкие корма – 4 литра;

4) блоки минеральных кормов или брикетов, не превышающих 1 кг каждый, – вес четырех оригинальных блоков или брикетов;

5) блоки минеральных кормов или брикетов, превышающих 1 кг каждый – 4 кг;

6) грубые корма/корм – 4 кг.

3.2.8. Количественные требования относительно конечных проб.

Необходим анализ минимум одной конечной пробы. Количество из анализируемой конечной пробы не может быть ниже нижеуказанного количества:

1) твердые корма – 500 г;

2) жидкие и полужидкие корма – 500 мл.

Для контроля наличия генномодифицированного материала конечная проба должна содержать минимум 10000 семян/зерен. Для кукурузы размер конечной пробы должен составлять минимум 3000 г и для сои 2000 г. Для других семян и зерен, как, например, ячмень, просо, овес, рис, рожь, пшеница и семена рапса, размер конечной пробы весом 500 г соответствует количеству более 10000 семян.

3.2.9. Метод отбора проб для очень больших партий (> 500 тонн) или партий, транспортируемых или складированных в складах, в порядке, не позволяющем отбор проб всей партии

В случае если порядок транспортировки или складирования партии не позволяет отбор обычных проб из всей партии, отбор проб из подобных партий должен выполняться, когда партия находится в потоке.

Отбор проб должен осуществляться с доступной стороны партии. Количество обычных проб устанавливается размером отборной партии. В случае отбора одной части из партии кормов того же класса или с тем

же описанием, предполагается, что результаты являются действительными для всех кормов из этой партии.

3.2.10. Отбор проб из доступных складских помещений сверху (для открытых силосохранилищ).

Отбор проб должен осуществляться из доступной части партии. Количество обычных проб устанавливается размером отборной партии. В случае отбора одной части из партии кормов того же класса или с тем же описанием, предполагается, что результаты являются действительными для всех кормов из этой партии.

3.2.11. Отбор проб из силосохранилищ, которые не доступны сверху (для закрытых силосохранилищ)

Из кормов, складированных на силосохранилищах объемом более 100 тонн, невозможно отобрать пробу в статическом порядке. В случае если из силосного корма необходимо отобрать пробу и нет никакой возможности переместить партию, нужно договориться с оператором, чтобы он сообщил инспектору о том моменте, когда силос будет разгружаться, чтобы можно было отобрать пробу, когда корм находится в потоке.

Процедура отбора проб из кормов, складированных в силосохранилищах объемом менее 100 тонн, требует введения емкости объемом 50-100 кг и отбора пробы из них. Размер совокупной пробы соответствует всей партии, а количество обычных проб связано с количеством силоса, поступившего в емкость для отбора проб.

В случае отбора одной части из партии кормов того же класса или с тем же описанием, предполагается, что результаты являются действительными для всех кормов из этой партии.

4. ИНСТРУКЦИИ ПО ОТБОРУ, ПОДГОТОВКЕ И УПАКОВКЕ ПРОБ

4.1. Общие требования

Отбор и подготовка проб осуществляется, во избежание возможности изменения или загрязнения продукта.

Инструменты, рабочие поверхности и контейнеры, предназначенные для отбора проб, должны быть чистыми и сухими.

4.2. Обычные пробы

4.2.1. По отношению к контролю веществ или продуктов, равномерно распределенных в кормах

Обычные пробы должны отбираться случайным методом из всей отборной партии, а их размер должен быть примерно равным.

Размер обычной пробы составляет минимум 100 г или 25 г, в случае грубых кормов или корма с особенно низким весом.

В случае отбора проб из небольших партий упакованных кормов, согласно количественным требованиям, следует отбирать ограниченное количество обычных проб. Обычная проба представляет собой содержание одной оригинальной единицы, содержание которой не превышает 1 кг или одного литра.

4.2.2. Корма россыпью

При необходимости, отбор проб может быть выполнен, когда партия передвигается в процессе погрузки или разгрузки.

4.2.3. Упакованные корма

После выбора для отбора необходимого количества пакетов, согласно указаниям главы 3 настоящего приложения, часть содержимого каждой упаковки извлекается с использованием

пробоотборника или лопаты. В случае необходимости, отбор проб производится после того, как пакеты были опорожнены отдельно.

4.2.4. Жидкие или полужидкие корма, однородные или гомогенизированные

После выбора необходимого количества контейнеров для отбора проб, как указано в главе 3 настоящего приложения, их содержимое гомогенизируется при необходимости и отбирается количество проб, взятых из каждого контейнера.

Обычные пробы могут быть отобраны при загрузке содержимого.

4.2.5. Жидкие или полужидкие корма негомогенизированные

После выбора необходимого количества контейнеров для отбора проб, как указано в главе 3 настоящего приложения, пробы отбираются из различных уровней.

Образцы могут быть получены и при разгрузке содержимого, но первые части удаляются.

В любом из случаев общий отобранный объем не должен составлять менее 10 литров.

4.2.6. Кормоблоки и минеральные брикеты

После выбора необходимого количества блоков или брикетов для отбора проб, согласно указаниям главы 3 настоящего приложения, отбирается часть из каждого блока или брикета.

В случае блоков или брикетов, не превышающих 1 кг каждый, обычная проба представляет собой содержание одного блока или одного брикета.

4.2.7. В отношении контроля нежелательных веществ или продуктов, которые могут быть неравномерно распределены в массовой доле кормов, таких как афлатоксин, спорынья, касторовое масло и кроталария из кормового сырья

Отбираются образцы примерно одинакового размера, а для упакованных кормов часть содержимого отобранных упаковок собирается с помощью зонда или лопаты после опорожнения пакетов по отдельности, если это необходимо, таким образом, чтобы общее количество образцов из каждой части составляло не менее 4 кг минимального количества, необходимого для каждой общей пробы.

Обычные пробы, отобранные из разных частей, не считаются общими.

4.2.8. Подготовка совокупных проб

Обычные пробы смешиваются для формирования одной совокупной пробы.

4.3. Подготовка общих проб

4.3.1. В отношении контроля веществ или продуктов с равномерным распределением в массовой доле кормов

Обычные пробы смешиваются для формирования одного общего образца.

4.3.2. В отношении контроля нежелательных веществ или продуктов, которые могут быть неравномерно распределены в массовой доле кормов, таких как афлатоксин, спорынья, касторовое масло и кроталария из кормового сырья.

Обычные пробы, отобранные из каждой части отборной партии, смешиваются, и образуется количество общих проб, предусмотренное в настоящем приложении, с указанием происхождения каждой общей пробы.

4.4. Подготовка конечных проб

Содержимое каждой совокупной пробы тщательно смешивается. Каждую пробу помещают в емкость. Принимаются все необходимые меры предосторожности во избежание любого изменения состава пробы, загрязнения или подделки, которые могут произойти во время транспортировки или хранения. В случае контроля компонентов или веществ, равномерно распределенных во всем корме, совокупная проба может быть уменьшена в репрезентативном порядке, по крайней мере, на 2 кг или 2 литра.

Для контроля наличия осадков пестицидов в бобовых, бобово-зерновых и фруктах орехоплодных культур минимальный размер уменьшенной пробы составляет 3 кг. В случае если характер корма не позволяет использование сепаратора, или сепаратор недоступен, проба может уменьшаться методом последовательных разделений.

Из уменьшенных проб подготавливаются конечные пробы для контроля, защиты и справки, примерно равного размера, в соответствии с требованиями пункта 3.2.8. настоящего приложения.

В случае контроля компонентов, в том числе генномодифицированного материала или веществ, которые могут быть неравномерно распределены в кормовом сырье, совокупная проба должна быть полностью гомогенизирована и впоследствии разделена на конечные или уменьшенные пробы минимум по 2кг или 2л с помощью механического или автоматического сепаратора.

Только в случае если характер корма не позволяет использование сепаратора, проба может, при необходимости, быть уменьшена методом последовательных разделений. Для контроля наличия генномодифицированного материала уменьшенная проба должна содержать минимум 35000 семян/зерен, для получения конечных проб минимум 10000 семян.

4.5. Упаковка проб

Контейнеры или пакеты пломбируются и маркируются таким образом, чтобы они не могли быть вскрыты без повреждения пломбы. Этикетка полностью должна быть под печатью.

4.6. Отправка проб в лабораторию

Пробу необходимо отправить в национальную референтную лабораторию, вместе с необходимой информацией для лаборанта. В соответствии с положениями подпункта в) части (2) статьи 3 Закона № 221-XVI от 19 октября 2007 года о ветеринарно-санитарной деятельности в качестве референтной лаборатории назначено Публичное учреждение «Республиканский центр ветеринарной диагностики.

5. ПРОТОКОЛ ОТБОРА ПРОБ И ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ ПРОБ

Для каждой пробы составляется протокол, который позволяет однозначно определить отобранную партию и ее размер.

Протокол должен также содержать информацию о любом отклонении от процедуры отбора проб, как предусмотрено в настоящем постановлении.

Протокол должен быть предоставлен в распоряжение как национальной референтной лаборатории, так и в распоряжение предпринимателя сектора кормов для животных.

к Постановлению Правительства

№ 686 от 13 сентября 2017 г.

МЕТОДЫ ПО ПОДГОТОВКЕ

образцов для анализа и представления результатов

1. ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА

1.1. Общие требования

Изложенные процедуры относятся к подготовке для исследования конечных проб, направленных в национальную референтную лабораторию после отбора проб, согласно указаниям приложения № 1 к настоящему постановлению.

Подготовка проб должна осуществляться таким образом, чтобы пробы, отобранные в соответствии с положениями метода анализа, были однородными и представительными для конечных проб.

1.2. Меры предосторожности

Способ подготовки проб, который необходимо применить, зависит от использованных методов для анализа, и являются очень важными для обеспечения, чтобы применяемая процедура подготовки проб была адекватной использованному методу для анализа.

Все необходимые операции выполняются таким образом, чтобы избежать загрязнения образца и изменения его состава.

Измельчение, перемешивание и отсеивание производится при минимальном воздействии воздуха и света на образец. Не

используются шлифовальные и резательные аппараты, которые могут вызвать значительное нагревание образца.

Рекомендуется измельчать термочувствительные корма ручным способом. Кроме того, используемое оборудование не должно быть источником загрязнения микроэлементами.

Если подготовка не может быть произведена без существенных изменений показателя содержания влаги в образце, содержание влаги определяется до и после подготовки в соответствии с методом, указанным в главе I приложения № 3 к настоящему постановлению.

1.3. Процедура подготовки

Проба разделяется на соответствующие подгруппы и направляется для анализа с использованием соответствующих методов разделения, таких как альтернативный отбор с помощью лопаты или отбор проб в стационарных или ротационных условиях.

Формирование конуса и выбор четверти не рекомендуется, поскольку это может сформировать подгруппы, приводящие к большим ошибкам разделения.

Направляемая проба хранится в соответствующем чистом, сухом, с герметической крышкой сосуде, а подгруппы для анализа весом не менее 100 г подготовлены способом, указанным подпунктах 1.3.1-1.3.4 настоящего приложения.

1.3.1. Корма, которые могут быть измельчены

Конечная проба, проходящая через решето, смешивается и помещается в подходящий чистый, сухой, с плотно закрывающейся крышкой сосуд. Перемешивается повторно для обеспечения полной гомогенизации сразу перед приготовлением пробы для анализа.

1.3.2. Корма, измельченные после сушки

Если иное не указано в методах анализа, образец обезвоживается таким образом, чтобы немедленно влага сократилась до 8-12%, в соответствии с процедурой предварительной сушки, описанной в пункте 1.4.3, методом определения влажности, указанным в главе I приложения № 3 к настоящему постановлению.

В дальнейшем выполняются предписания, указанные в подпункте 1.3.1 настоящего приложения.

1.3.3. Жидкие или полужидкие корма

Образцы отбираются в подходящий чистый, сухой, с плотно закрывающейся крышкой сосуд. Тщательно перемешиваются для обеспечения однородности непосредственно перед отбором проб для анализа.

1.3.4. Другие корма

Образцы, которые не могут быть получены в соответствии с процедурами, указанными выше, рассматриваются по любой другой процедуре, которая обеспечивает, что образцы, отобранные для анализа, являются однородными и представительными для конечной пробы.

1.3.5. Специальные процедуры в случае визуального осмотра или осмотра под микроскопом в случае гомогенизации целой пробы.

В случае исследования посредством визуального осмотра, не прибегая к микроскопу, вся лабораторная проба используется для исследования.

В случае микроскопического исследования, лаборатория может уменьшить совокупную пробу или может в дальнейшем уменьшить уменьшенную пробу. Конечные пробы для защиты и, в конечном итоге, для справки отбираются вследствие процедуры, эквивалентной процедуре, следуемой для конечной пробы.

В случае гомогенизации всей совокупной пробы, конечные пробы отбираются из гомогенизированной совокупной пробы.

1.4. Хранение образцов

Образцы должны храниться в условиях, не оказывающих отрицательного влияния на физико-химические свойства и безопасность продукта, таким образом, что после отбора пробы отправляются в лабораторию, время отправки которых не должно превышать 48 часов с момента отбора. Они хранятся посредством охлаждения при температуре +2 ... +4 °С в стерильных пластиковых емкостях. Пробы, предназначенные для анализа на наличие витаминов или веществ, чувствительных к свету, хранятся в коричневых стеклянных бутылках. Все отправленные в лабораторию пробы должны храниться до получения конечных результатов.

2. ТРЕБОВАНИЯ К РЕАКТИВАМ И АППАРАТУРЕ, ИСПОЛЬЗУЕМЫМ В МЕТОДАХ АНАЛИЗА

2.1. Если иное не оговорено в методах анализа, все реактивы для анализа должны быть аналитически чистыми. Для анализа присутствия микроэлементов чистота реактивов проверяется контрольным исследованием. В зависимости от полученных результатов может потребоваться дополнительное очищение реактивов.

2.2. Для любой операции, связанной с приготовлением растворов, разбавлением, полосканием или промыванием, указанным в методах анализа, и для которых нет никаких обозначений относительно свойства растворителя или разбавителя, используется вода. В качестве общего правила, используется деминерализованная или дистиллированная

вода. В особых случаях, которые указаны в методах анализа, вода должна подвергаться специальной процедуре очистки.

Учитывая используемое оснащение лабораторий по контролю, в методах анализа указываются только инструменты и оборудование, предназначенные для этих целей. Они должны быть чистыми.

3. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ АНАЛИЗА И ПРЕДСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Процедура экстракции

Существует ряд методов определения специфической процедуры экстракции. Как правило, могут применяться другие методы экстракции, чем те, которые относятся к методу, если доказано, что использованная процедура экстракции для анализа массива имеет эффективность экстракции, эквивалентную процедуре, предусмотренной в методе.

3.2. Процедура очистки

Существует несколько методов определения специфических процедур очистки. Как правило, могут применяться другие методы очистки, чем относящиеся к методу, если доказано, что примененная процедура очистки для анализа массива определяет аналитические результаты, эквивалентные процедуре, предусмотренной в методе.

3.3. Отчетность используемого метода анализа

Как правило, для определения каждого вещества в корме устанавливается единым методом анализа. В случае обозначения нескольких методов в протоколе испытаний указывается метод, примененный национальной референтной лабораторией.

3.4. Количество определений

Результат, указанный в протоколе испытаний, представляет среднее значение, полученное в результате не менее двух определений, выполненных на отдельных частях пробы.

При анализе обнаружения нежелательных веществ, если первый результат измерения значительно меньше ($> 50\%$), чем в контрольной спецификации, нет необходимости в других определениях, при условии, что применяются соответствующие процедуры контроля качества.

В случае контроля объявленного содержания на определенное вещество или конкретный ингредиент, если первый результат подтверждает объявленное содержимое, то есть результат анализа соответствует интервалу принятого отклонения, нет необходимости в других определениях, при условии применения соответствующих процедур контроля качества.

3.5. Отчеты аналитического результата

Аналитический результат выражается в порядке, указанном в методе анализа, с соответствующим количеством значащих цифр и корректируется, при необходимости, с содержащейся влажностью в пробе перед приготовлением.

3.6. Неопределенность измерений и скорость восстановления в случае анализа по обнаружению нежелательных веществ

Что касается нежелательных веществ, предусмотренных в приложении № 5 к настоящему постановлению, включая диоксин и

полихлорированные бифенилы (в дальнейшем – ПХБ), подобные диоксину, продукт, предназначенный для кормления, считается не соответствующим условию о максимально допустимом содержании относительно корма влажностью 12%, если в результате анализа установлено, что он превышает максимальное содержание, с учетом расширенной неопределенности измерения и корректировки для восстановления.

Для оценки соответствия проанализированная концентрация используется после ее исправления для восстановления и исключения расширенной неопределенности измерения. Данная процедура применяется только в случаях, когда метод анализа позволяет оценить погрешности измерения и корректировки для восстановления, процедура невозможна для микроскопического анализа.

В той мере, в которой использованный метод анализа позволяет оценить неопределенность измерений и скорость восстановления, аналитический результат сообщается следующим образом:

1) с учетом корректировки для восстановления указывается уровень восстановления. Корректировка для восстановления не требуется, если скорость восстановления составляет от 90 до 110%;

2) как показатели « $x \pm U$ », где x – аналитический результат и U является расширенной неопределенностью измерения с использованием покрытия в 2 раза, что дает уровень уверенности примерно на 95%.

Если результат анализа является значительно меньше (> 50%), не указан в контрольной спецификации и при условии, что соответствующие процедуры качества были применены, и анализ служит только для проверки соответствия положениям законодательства, аналитический результат мог бы быть представлен без корректировки для восстановления, а отчетность скорости восстановления и неопределенности измерений в этих случаях могут быть опущены.»;

«Приложение № 5
к Постановлению
Правительства
№ 686 от 13 сентября 2012 г.

**МЕТОДЫ АНАЛИЗА
по контролю нежелательных веществ в корме**

**1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СВОБОДНОГО
И ОБЩЕГО ГОССИПОЛА**

1.1. Цель и область применения

Настоящий метод позволяет определить уровень свободного госсипола, общего госсипола и родственных ему химических веществ из семян хлопчатника, муки из семян хлопчатника и брикетов семян хлопчатника и комбикорма, содержащих это сырье, когда свободный госсипол, общий госсипол и химические вещества, родственные ему, присутствуют в концентрации, превышающей 20 мг/кг.

1.2. Принцип применения

Госсипол добывается в присутствии 3-аминопропан-1-ола либо с помощью смеси пропан-2-ола и гексана, для определения свободного госсипола или диметилформамида, для определения общего госсипола.

Госсипол преобразуется с помощью анилина в госсипол-дианилин, оптическую плотность которого измеряют при длине волны 440 нм.

1.3. Применяемые реагенты

1.3.1. Смесь пропан-2-ола-гексана: смешивают 60 объемных частей пропан-2-ола с 40 объемными частями *n*-гексана.

1.3.2. Растворитель А: вводят в 1 литровую мерную колбу примерно 500 мл смеси пропана-2-ола-гексана, 2 мл 3-аминопропана-1-ола, 8 мл ледяной уксусной кислоты и 50 мл воды. Доводится до объема смесью пропана-2-ола-гексана. Этот реагент стабилен в течение одной недели.

1.3.3. Растворитель В: вводят 2 мл 3-аминопропана-1-ола и 10 мл ледяной уксусной кислоты в мерную колбу объемом 100 мл.

Охлаждают при комнатной температуре и доводят до объема N,N-диметилформамидом. Этот реагент стабилен в течение одной недели.

1.3.4. Анилин: если оптическая плотность контрольной пробы превышает 0,022, анилин дистиллируется над цинковой пылью, с удалением первых и последних долей 10% дистиллята. Охлажденный в холодильнике и сохраненный в сосуде из коричневого стекла с пробкой, этот реагент сохраняется в течение нескольких месяцев.

1.3.5. Стандартный раствор госсипола А: помещают 27,9 мг ацетатного госсипола в 250 мл мерную колбу. Растворяют и доводят до нужного объема растворителем А. Вводят 50 мл этого раствора в 250 мл мерную колбу и доводят до объема растворителем А. Концентрация госсипола этого раствора составляет 0,02 мг/мл. Перед использованием оставляют в течение часа при комнатной температуре.

1.3.6. Стандартный раствор госсипола В: вводят 27,9 мг ацетатного госсипола в 50 мл мерную колбу, растворяют и доводят до нужного

объема с помощью растворителя В. Концентрация госсипола из данного раствора составляет 0,5 мг/мл.

Стандартные растворы госсипола А и В остаются стабильными в течение 24 часов, если они защищены от воздействия света.

1.4. Измерительные приборы

1.4.1. Смеситель: около 35 об/мин.

1.4.2. Спектрофотометр.

1.5. Процедура подготовки

1.5.1. Исследуемая проба

Количество используемой исследуемой пробы зависит от предполагаемого содержания госсипола в пробе. Работать необходимо с небольшой пробой и относительно большой аликвотной частью фильтрата, чтобы получить достаточно госсипола для точного фотометрического измерения. Для определения свободного госсипола в семенах хлопчатника, муки семян хлопчатника и брикетов семян хлопчатника, исследуемый образец не должен превышать 1 г. Для комбикормов он может составлять не более 5 г. 10 мл аликвотной части фильтрата достаточно в большинстве случаев. Она содержит от 50 до 100 мкг госсипола. Для определения общего госсипола исследуемый образец составляет от 0,5 до 5 г, для того, чтобы 2 мл аликвотная часть фильтрата содержала от 40 до 200 мкг госсипола.

Анализ осуществляется при комнатной температуре около 20°C.

1.5.2. Определение свободного госсипола

Помещают исследуемый образец в колбу на 250 мл, дно колбы должно быть покрыто дробленным стеклом. С помощью пипетки добавляют 50 мл растворителя А, закрывают пробкой колбу и

перемешивают в течение одного часа в смесителе. Фильтруют через сухой фильтр и собирают фильтрат в небольшую колбу со шлифованным горлышком. В процессе фильтрации покрывают воронку часовым стеклом.

Вводят одинаковые аликвотные части фильтрата, содержащие 50-100 мкг госсипола в каждой из двух мерных 25 мл колб (А и В). При необходимости, доводят объем до 10 мл растворителем А. Затем содержимое колбы А дополняют до объема смесью пропан-2-ол-гексана. Этот раствор используется в качестве ориентировочного раствора, по которому можно измерить растворный образец.

Вводят 10 мл растворителя А в каждую из двух других 25 мл мерных колб (С и D). Содержимое колбы С доводят до объема смесью пропан-2-ол-гексана. Этот раствор будет использоваться в качестве ориентировочного раствора, по которому можно измерить исследуемое контрольное вещество.

Добавляют 2 мл анилина в каждую из колб D и В. Нагревают в течение 30 минут на кипящей водяной бане до появления цвета. Охлаждают при комнатной температуре, доводят до объема смесью пропан-2-ол-гексана, стабилизируют и оставляют в течение часа.

Определяют оптическую плотность контрольного исследуемого вещества D в сравнении с ориентировочным раствором С, а также оптическую плотность исследуемого раствора В в сравнении с ориентировочным раствором А, спектрофотометром при 440 нм с использованием стеклянных клеток 1 см.

Вычитают оптическую плотность контрольного вещества из исследуемого раствора, что представляет собой исправленную оптическую плотность. Из этого значения рассчитывают содержание свободного госсипола, как описано в пункте 1.6. настоящего приложения.

1.5.3. Определение общего госсипола

Помещают исследуемый образец, содержащий 1-5 мг госсипола, в 50 мл мерную колбу и добавляют 10 мл растворителя В. В это же время подготавливают контрольный образец, помещая 10 мл растворителя В в другую 50 мл мерную колбу. Нагревают обе колбы в течение 30 минут на кипящей водяной бане.

Охлаждают при комнатной температуре и содержимое каждой колбы доводят до объема с помощью смеси пропан-2-ол-гексана. Стабилизируют и оставляют оседать в течение 10-15 минут, затем фильтруют и собирают фильтраты в колбы со шлифованным горлышком.

Вводят 2 мл фильтрата образца в каждую из двух 25 мл колб и 2 мл фильтрата контрольного теста в каждую из двух других 25 мл колб. Дополняют содержимое одной колбы из каждой серии до 25 мл пропан-2-ол-гексаном. Эти растворы используются в качестве ориентировочных растворов.

Добавляют 2 мл анилина в каждую из двух других колб. Нагревают в течение 30 минут на кипящей водяной бане до появления цвета. Охлаждают при комнатной температуре, доводят до объема 25 мл смесью пропан-2-ол-гексана, стабилизируют и оставляют в течение часа.

Определяют оптическую плотность в соответствии с указаниями из пункта 1.5.2. для свободного госсипола. Из этого значения рассчитывают содержание общего госсипола, как указано в пункте 1.6. настоящего приложения.

1.6. Расчет результатов

Результаты могут быть пересчитаны на основании удельной оптической плотности, указанной в подпункте 1.6.1. настоящего приложения, либо ссылаясь на калибровочную кривую, в соответствии с положениями, описанными в подпункте 1.6.2. настоящего приложения.

1.6.1. С помощью удельной оптической плотности

Удельной оптической плотностью, согласно описанию, являются:

- 1) Свободный госсипол $E \times 1\%/1 \text{ см} = 625$;
- 2) Общий госсипол $E \times 1\%/1 \text{ см} = 600$.

Содержание свободного и общего госсипола в образце рассчитывается по следующей формуле:

$$\% \text{ госсипола: } E \times 1250 / E^{1\%}_{1 \text{ см}} \times p \times a,$$

где:

E = скорректированная оптическая плотность, определенная согласно указаниям в подпункте 1.5.2. настоящего приложения;

p = исследуемый образец, в г;

a = аликвотная часть фильтрата, в мл.

1.6.2. С помощью калибровочной кривой

1) Свободный госсипол

Подготавливают две серии из пяти 25 мл градуированных колб. Титруется 2, 4, 6, 8 и 10 мл стандартного раствора госсипола А в каждой серии колб. Доводят до объема 10 мл растворителем А. Заполняют каждую серию 25 мл мерной колбой, содержащей только 10 мл растворителя А, что представляет собой контрольный тест.

Доводят до 25 мл объем колб из первой серии, в том числе колбу контрольного теста, смесью пропан-2-ол-гексана, которые представляют собой ориентировочные серии.

Добавляют 2 мл анилина в каждую колбу из второй серии, в том числе колбу контрольного образца. Нагревают в течение 30 минут в кипящей водяной бане до появления цвета. Охлаждают при комнатной температуре, доводят до объема смесью пропан-2-ол-гексана, стабилизируют и оставляют в течение часа, которые представляют собой стандартные серии.

Определяют, согласно указаниям из подпункте 1.5.2. настоящего приложения, оптическую плотность растворов из стандартных серий, в сравнении с соответствующими растворами из ориентировочных серий. Проводят калибровочную кривую путем графического изображения оптической плотности в сравнении с количеством госсипола, в мкг.

2) Общий госсипол

Подготавливают шесть градуированных колб по 50 мл. В первую колбу вводится 10 мл растворителя В, в остальные по 2, 4, 6, 8 и 10 мл стандартного раствора госсипола В. Дополняют содержание каждой колбы до 10 мл растворителем В. Нагревают в течение 30 минут в кипящей водяной бане. Охлаждают при комнатной температуре, заполняют объем смесью пропан-2-ол-гексана и стабилизируют.

Помещают 2 мл этого раствора в каждую из двух серий, состоящих из шести колб, каждая по 25 мл. Дополняют содержимое колб из первой серии приблизительно 25 мл смеси пропан-2-ол-гексана, которые представляют собой ориентировочные серии.

Добавляют 2 мл анилина в каждую колбу из второй серии, нагревают в течение 30 минут в кипящей водяной бане, охлаждают при комнатной температуре, доводят до объема смесью пропан-2-ол-гексана, стабилизируют и оставляют в течение часа, которые представляют собой стандартные серии.

Определяют, согласно указаниям подпункта 1.5.2. настоящего приложения, оптическую плотность растворов из стандартных серий в сравнении с соответствующими растворами из ориентировочных серий.

Проводят калибровочную кривую путем графического изображения оптической плотности в сравнении с количеством госсипола, в мкг.

1.6.3. Повторяемость

Разница между результатами двух параллельных измерений, выполняемых на том же образце, не должна превышать:

15% в относительной величины, при содержании госсипола менее 500 частей на миллион;

75 частей на миллион в абсолютной величине, при содержании госсипола минимум 500 и максимум 750 частей на миллион;

10% в относительной величине до самого высокого значения при содержании госсипола более чем 750 частей на миллион.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ДИОКСИНА И УРОВНЯ ПОЛИХЛОРИРОВАННОГО БИФЕНИЛА, СХОЖИХ С ДИОКСИНОМ

I. Методы отбора и интерпретации результатов анализа

2.1. Цель и область применения

Пробы, предназначенные для официального контроля уровня диоксинов, как полихлорированные дибензо-п-диоксины (ПХДД) полихлорированные дибензофураны (ПХДФ) и полихлорированные бифенилы (ПХБ) типа диоксинов и ПХБ, не принадлежащие к типу диоксинов из кормов, указанных в таблице 1 настоящего приложения, схожие с диоксином в кормах, отбираются в соответствии с указаниями

приложения № 1. Необходимо применять количественные требования к контролю веществ или продуктов, равномерно распределенных в корме, как указано в главе 3 раздела I приложения № 1 к настоящему постановлению. Коллективные пробы, полученные таким образом, считаются представительными для партий или подпартий, из которых они отбираются. Соблюдение максимальных уровней, установленных в Постановлении Правительства № 1405 от 10 декабря 2008 года «Об утверждении Ветеринарно-санитарной нормы по гигиене кормов и содержанию нежелательных веществ в кормах», устанавливается на основании уровней, определенных в лабораторных пробах.

Методы скрининга представляют собой методы, используемые для отбора проб с уровнями ПХДД/ПХДФ и ПХБ типа диоксинов, превышающих максимальные уровни или пороги действия. Они предоставляют повышенную способность анализа проб, эффективного с точки зрения расходов, увеличивая, таким образом, шанс обнаружить новые случаи с высоким уровнем выражения и рисками для здоровья, важными для потребителей.

Методы скрининга основываются на биоаналитических методах и методах GC-MS. Результаты проб, превышающие предельное значение для проверки соответствия с максимальным уровнем, должны быть проверены новым полным анализом из оригинальной пробы путем подтверждающего метода.

Подтверждающими методами являются методы, предоставляющие полную или дополнительную информацию, позволяющую точно идентифицировать и квантифицировать ПХДД/ПХДФ и ПХБ типа диоксинов на максимальном пороге или, при необходимости, на пороге действия. Подобные методы используют газовую хроматографию/ масс-спектрометрию высокого разрешения (GC-HRMS) или газовую хроматографию/ тандемную масс-спектрометрию в (GC-MS/MS).

2.2. Соответствие партии или подпартии характеристикам

Партия допускается, если аналитический результат одного анализа не превышает максимальное содержание, установленное Постановлением Правительства № 1405 от 10 декабря 2008 года, с учетом погрешности измерения.

Партия не соответствует максимальному уровню, установленному в Постановлении Правительства № 1405 от 10 декабря 2008 года, если аналитический результат по максимальному пределу, подтвержденный параллельным исследованием, превышает с допустимой степенью достоверности максимальное содержание.

Таблица 1

Таблица токсичных равнозначных факторов для диоксинов, фуранов и диоксиноподобных соединений ПХБ

Схожие (та же группа)	Значение TEF	Схожие (та же группа)	Значение TEF
Дибензо-п-диоксин (ПХДД) дибензофураны (ПХДФ)		Диоксиноподобные соединения ПХБ	
2,3,7,8-TCDD	1	Нон-орто ПХБ ПХБ 77 ПХБ 81 ПХБ 126 ПХБ 169	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDD	1		
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1		
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01		
OCDD	0,0003		
			0,0003

Дибензофураны (ПХДФ)		ПХБ 105	0,00003
2,3,7,8-TCDF	0,1	ПХБ 114	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	ПХБ 118	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3		
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	ПХБ 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	ПХБ 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	ПХБ 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	ПХБ 167	0,000003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	ПХБ 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		
Использованные сокращения: TEF- факторы токсической эквивалентности; Т = тетра; Ре = пента; Нх = гекса; Нр = гепта; О = окта; CDD = хлордibenзо-п-диоксин; CDF = хлордibenзофуран; CB = хлорированные бифенилы			

Погрешность измерения можно рассчитать одним из двух способов:

1) подсчитывая расширенную погрешность при помощи коэффициента покрытия 2, который дает примерную достоверность 95%. Партия не считается соответствующей, если измеренное значение минус U больше максимального уровня.

В случае отдельного определения диоксинов и диоксиноподобных ПХБ определенная сумма расширенной погрешности отдельных аналитических результатов диоксинов и

диоксиноподобных ПХБ используется для суммы диоксинов и диоксиноподобных ПХБ;

2) установленный предел определения ($СС\alpha$) – уровень, при котором и от которого разрешается сделать вывод с вероятностью ошибки α , что образец не соответствует.

Предел определения устанавливается в соответствии с требованиями для идентификации или идентификации и квантификации.

Партия является несоответствующей, если измеренное значение равно или превышает $СС\alpha$.

II. ПОДГОТОВКА ПРОБ И ТРЕБОВАНИЙ К ИСПОЛЬЗОВАННЫМ МЕТОДАМ АНАЛИЗА ДЛЯ ОФИЦИАЛЬНОГО КОНТРОЛЯ УРОВНЕЙ ДИОКСИНОВ (ПХДД/ПХДФ) И ДИОКСИНОПОДОБНЫХ ПХБ

2.1. Цель и область применения

Настоящие требования применяются, когда корма и сырье для кормов исследованы для выявления диоксинов, таких как полихлорированные дибензо-*p*-диоксины (ПХДД) и полихлорированные дибензофураны (ПХДФ)] и полихлорированные бифенилы (ПХБ).

Мониторинг присутствия диоксинов в кормах может быть достигнут посредством стратегии, предусматривающей утвержденный метод, в целях отбора тех же образцов с уровнем диоксинов и диоксиноподобных ПХБ, имеющих значения менее чем на 25% выше или ниже интересующего уровня. Концентрация диоксинов в образцах, в которых выявлены значительные уровни, определяется/подтверждается утвержденным методом.

Утвержденными методами являются методы, используемые для обнаружения присутствия диоксинов и диоксиноподобных ПХБ в концентрациях, представляющих интерес. Эти методы обладают высокой способностью к обработке образцов и используются для сортировки по категориям большого количества потенциально положительных образцов. Предназначены специально для избежания ложных отрицательных результатов.

Утвержденными методами являются методы, которые предоставляют полную или дополнительную информацию, позволяющую обнаружение и достоверную квантификацию диоксинов и диоксиноподобных ПХБ в концентрациях, представляющих интерес.

2.2. Контекст

Учитывая, что экологические и биологические образцы, в том числе отбор проб из корма/сырья, как правило, содержат комплексное соединение смесей различных соединений диоксина, была разработана концепция факторов токсической эквивалентности (КТЭ) для содействия оценке рисков. Эта КТЭ была создана для выражения концентрации смесей 2,3,7,8-замещенных ПХДД и ПХДФ и неорто ПХБ и моно-орто-замещенных хлором с аналогичной деятельностью диоксина в токсичных эквивалентах (ТЭ) 2, 3, 7, 8-ТХДД. Концентрации отдельных веществ в данном образце умножаются на значение ТEF, а затем суммируются для получения общей концентрации соединений диоксиноподобных ПХБ, выраженной в ТЭ.

Принятый специальный уровень квантификации для отдельных соединений является концентрацией аналита в пробе экстракта, производящей инструментальный ответ для двух различных ионов, которые должны быть рассмотрены на соотношение S/Z (сигнал/шум) как 3:1 для наименее чувствительного сигнала, и отвечает основным условиям, например, таким, как время удержания и изотопное соотношение.

В случае если по техническим причинам расчет соотношения сигнал/шум не предоставляет надежные результаты, самая низкая точка концентрации на кривой эталонирования, предоставляющая допустимое ($\leq 30\%$) и связное отклонение (измеренное как минимум в начале и в конце серии аналитических проб) от среднеотносительного отвечающего фактора, рассчитанного для всех пунктов кривой эталонирования для каждой серии проб. Предел квантификации (LOQ) вычисляется от самой низкой точки концентрации с учетом восстановления внутренних проб и отбора проб.

Биоаналитические методы скрининга не дадут результат на уровне одного вида, а только указание уровня ТЭ, выраженного в биоаналитических эквивалентах (БЭ), так как не все соединения, присутствующие в экстракте пробы, дающей ответ в рамках теста, могут выполнять все требования ТЭ-принципа.

Результаты, полученные при отборе одной части из партии кормов, считаются действительными для всех кормов того же класса или с тем же описанием из соответствующей партии.

2.3. Требования к обеспечению контроля за качеством, которые должны быть соблюдены при подготовке проб

Применяются общие положения по подготовке образцов для анализа, изложенные в приложении № 2 к настоящему постановлению.

Также должны выполняться следующие требования:

1) образцы хранятся и транспортируются в сосудах из стекла, алюминия, полипропилена или полиэтилена. Из контейнеров, содержащих образцы, должны быть удалены остатки бумажной пыли. Посуда предварительно промывается контролируемыми растворителями для обнаружения диоксинов;

2) осуществляется контрольный анализ путем проведения всей аналитической процедуры, с исключением только образца;

3) вес использованного для экстракции образца должен быть достаточным для выполнения требований относительно чувствительности;

4) проводится контроль реактивов, посуды и оборудования для предотвращения и исключения возможного оказания влияния на базовые результаты ТЭ или БЭ;

5) для биоаналитических методов вся посуда и все растворители, используемые в ходе анализа, проверяются на наличие соединений, мешающих обнаружению целевых соединений в рабочий интервал. Посуда промывается растворителем или прогревается на высоких температурах для удаления следов ПХДД/ПХДФ, соединений типа диоксинов и интерферирующих соединений с ее поверхности;

6) количество используемого для экстракции образца, необходимого для выполнения требований относительно сокращенного рабочего интервала, в том числе концентрации максимальных уровней или порога действия;

7) в той мере, в которой это является релевантным, каждая лабораторная проба измельчается и тщательно смешивается способом, посредством которого реализуется полная гомогенизация, как, например, проба, измельченная таким образом, чтобы проходить через сито с ячейками диаметром 1 мм. Пробы сушатся до измельчения, если коэффициент влажности слишком большой.

2.4. Требования, примененные к национальной референтной лаборатории

1) Национальная референтная лаборатория должна доказать эффективность метода на уровне интересов с приемлемым коэффициентом вариации при повторном анализе.

2) Уровень квантификации для подтверждающего метода должен находиться в пределах одной пятой от уровня интереса для гарантирования того, что на уровне заинтересованности будут выполнены приемлемые коэффициенты изменения.

3) Чтобы внутренние меры контроля качества были осуществлены должны регулярно проводиться контрольные исследования с зараженными образцами или анализ некоторых контрольных проб посредством сертифицированного ориентировочного материала.

4) Участие в межлабораторных исследованиях для определения постоянных диоксинов и диоксиноподобных ПХБ в структуре питания/корма.

5) Национальная референтная лаборатория для анализа проб, отобранных во время официального контроля, должна быть аккредитована в соответствии с национальным стандартом МС ИСО/МЭК 17025 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий».

6) Национальная референтная лаборатория, применяющая методы скрининга для рутинного контроля проб, тесно сотрудничают с лабораториями, применяющими подтверждающий метод, как для контроля качества, так и для подтверждения аналитического результата подозрительных проб.

2.5. Требования к аналитическим процедурам для диоксинов и диоксиноподобных ПХБ

Основные требования для принятия аналитических процедур:

1) Высокая чувствительность и низкий предел обнаружения. Для ПХДД и ПХДФ обнаруживаемые количества должны быть в фемтограммах ТЭ (10^{-15} г), по причине крайней токсичности некоторых из этих соединений. Известно, что ПХБ находятся на более высоком уровне, чем ПХДД и ПХДФ. Для большинства ПХБ-подобных чувствительность разряда нанограмм (10^{-9} г) считается удовлетворительной. Для измерения более токсичных диоксиноподобных ПХБ, в частности, неорто-замещенных того же вида, нижний предел рабочего интервала достигает на низких уровнях порядка пикограмм (10^{-12} г). Для всех других ПХБ-подобных предел квантификации порядка нанограмм (10^{-9} г) является достаточным и должна быть достигнута идентичная чувствительность как для ПХДД, так и ПХДФ.

2) Для повышенной избирательности следует различать ПХДД, ПХДФ и диоксиноподобные ПХБ в связи с множеством других выявленных соединений и возможных интерференций, присутствующих в концентрациях, до нескольких порядков значений, превышающих присутствующие в исследуемых анализах. Для методов газовой хроматографии/масс-спектрометрии - GC/MS необходимо различие между различными соединениями, например, между токсичными соединениями, как, например, семнадцать ПХДД, ПХДФ, замещенные 2,3,7,8 и диоксиноподобными ПХБ, и другие. Биопробы должны позволить определение выборочных значений TEQ, как сумма ПХДД, ПХДФ и диоксиноподобных ПХБ.

Целью чистки проб является удаление соединений, которые могут привести к ложным несоответствующим результатам или соединениям, которые могут уменьшить результат, приведя к ложным соответствующим результатам.

3) Для высокой тщательности необходимо, чтобы определение обеспечивало достоверную и надежную оценку действительной концентрации в образце. Высокая тщательность необходима для избежания отклонения результата анализа образца в виду

уменьшенной надежности оценки TEQ. Тщательность выражается в точности, которая представляет разницу между средним значением измеряемой концентрации для аналита из сертифицированного материала и сертифицированного значения, выраженной в процентах от этой величины, и достоверностью (RSDR), стандартное относительное отклонение рассчитывается на основании результатов, полученных в условиях воспроизводимости.

Методы отбора биопроб включают в себя и методы GC/MS. Подтверждающие методы включают газовую хроматографию высокого разрешения/высокую разрешенную масс-спектрометрию (HRGC/HRMS).

Лаборатории демонстрируют показатели метода в интервале максимального уровня, например, 0,5x, 1x и 2x максимальный уровень, с коэффициентом колебания, применимым для повторного анализа во время процедуры утверждения и во время рутинного анализа.

В качестве внутренних мер контроля качества периодически проводятся проверки контрольного образца, эксперименты с обогащением или анализы контрольных проб, если возможно, сертифицированным ориентировочным материалом. Регистрируются и проверяются графики контроля качества для контрольного образца, эксперименты с обогащением или анализы контрольных проб, для гарантирования, что аналитические показатели соответствуют требованиям.

Для биоаналитического метода скрининга установление предела квантификации не представляет собой крайне необходимое требование, однако метод должен доказать, что может провести отличие между контрольным значением и предельным значением. При предоставлении уровня БЭ устанавливается уровень отчетности для принятия решений, связанных с пробами, представляющими собой ответ под этим уровнем.

Уровень отчетности должен быть отличным от контрольных проб в рамках процедуры минимум на один фактор из трех, на один ответ,

ниже рабочего интервала. Следовательно, рассчитывается исходя из проб, содержащих целевые соединения вокруг необходимого минимального уровня, а не из соотношения знак/шум или контрольного теста.

Для общего значения ТЭ должны соблюдаться следующие критерии, указанные в таблице 2 настоящего приложения:

Таблица

Общее значение ТЭ

	Методы обнаружения	Подтверждающие методы
Ложные отрицательные темпы	< 5%	
Точность		-20% до +20%
Достоверность RSD_R	< 25%	< 15%
Повторяемость RSD_r	< 20%	

2.5.1. Как методы GC-MS, так и биоаналитические методы могут быть использованы для скрининга. Для методов GC-SM должны соблюдаться требования, предусмотренные в пункте 2.6. настоящего приложения. Для клеточных биоаналитических методов предусмотрены специфические требования в пункте 2.7 настоящего приложения.

Лаборатории, применяющие методы скрининга для рутинного контроля проб, тесно сотрудничают с лабораториями, применяющими подтверждающий метод.

Проверка возможного подавления клеточного ответа и цитотоксичности 20% из экстрактов проб измеряются в рутинном скрининге с и без 2,3,7,8-TCDD, который добавляется в зависимости от максимального уровня или порога действия, для проверки, если ответ, возможно, подавляется интерферирующими веществами, присутствующими в экстракте пробы. Измеренная концентрация обогащенной пробы сравнивается с суммой концентрации необогащенного экстракта, плюс концентрация с обогащением. Если эта измеренная концентрация более чем на 25% меньше рассчитанной концентрации, она указывает на возможность удаления сигнала, а соответствующая проба подвергается подтверждающему анализу посредством GC-HRMS. Результаты отображаются в графиках контроля качества.

Примерно 2-10 % соответствующих проб, в зависимости от матрицы пробы и опыта лаборатории, подтверждаются посредством GC-HRMS.

По меньшей мере, в условиях утверждения биоаналитические методы предоставляют действительно указание уровня ТЭ, рассчитанного и выраженного в БЭ.

И для биоаналитических методов, проведенных в условиях повторяемости, внутрилабораторное значение RSDr, в общем, является ниже RSDR, что представляет собой воспроизводимость.

2.5.2 Определение ложных соответствующих коэффициентов, исходя из данных контроля качества.

Определяется коэффициент ложных соответствующих результатов, вытекающих из скрининга проб, до и более максимального уровня или порога действия. Реальные ложные соответствующие коэффициенты составляют до 5%. В то время, как вследствие контроля качества соответствующих проб, доступно минимум 20 подтвержденных результатов на матрицу/группу матриц, заключения о ложном соответствующем коэффициенте должны быть взяты из этой базы

данных. Результаты проб, анализируемых посредством внутрилабораторных тестирований или во время случаев заражения, покрывающих интервал концентраций до, например, 2х максимального уровня, могут быть также включены в те минимум 20 результатов для оценки ложного соответствующего коэффициента. Пробы покрывают самые частые образцы для подобных, представляя различные источники.

Несмотря на то, что целью тестов по скринингу является обнаружение проб, превышающих порог действия, критерий определения ложных соответствующих коэффициентов представляет собой максимальный уровень, учитывая недостоверность измерения подтверждающего метода.

2.6. Специальные требования для GC-MS методов, которым необходимо следовать в целях скрининга или подтверждения

1) Добавление внутренних стандартов ПХДД/Ф 2,3,7,8-замещенных хлора и диоксиноподобных ПХБ, отмеченных ^{13}C , необходимо осуществить в начале проведения метода анализа, например, в начале экстракции, для признания аналитической процедуры. Необходимо добавить не менее чем одно соединение для каждой группы, соответствующей тетра-окта-хлорированным ПХДД/Ф и не менее чем одно соединение для каждой из утвержденных групп диоксиноподобных ПХБ, или в альтернативном случае, не менее чем одно соединение для каждого выбранного режима регистрирования выбранного иона методом масс-спектрометрии, использованным для мониторинга ПХДД/Ф и диоксиноподобных ПХБ.

Необходимо, чтобы существовало явное предпочтение, особенно для подтверждающих методов, для использования всех 17 внутренних стандартов ПХДД/Ф замещенных 2,3,7,8-хлор и отмеченных ^{13}C , и всех 12 внутренних стандартов диоксиноподобных ПХБ, отмеченных ^{13}C .

2) Определяются также относительные отвечающие факторы для тех соединений, в которые не добавляют ^{13}C -меченных аналогов, используя соответствующие растворы для калибровки.

3) Для кормов растительного происхождения и кормов животного происхождения, содержащих менее 10% жира, обязательно добавление внутренних стандартов перед экстракцией. Для кормов животного происхождения, содержащих более 10% жира, внутренние стандарты могут быть добавлены либо перед экстракцией, либо после извлечения жира. Осуществляется соответствующий утвержденный метод проверки эффективности экстракции, в зависимости от стадии внедрения внутренних стандартов и способа указания результатов, в зависимости от продукта или жира.

4) Перед GC/MS анализом должны быть добавлены один или два восстановительных стандарта, которые представляют собой суррогатные стандарты.

5) Необходим восстановительный контроль. Для подтверждающих методов восстановление отдельных внутренних стандартов должно быть в пределах 60-120%. Утверждены и наименьшие или наибольшие восстановления для отдельных соединений, особенно для дибензодиоксинов и дибензофуранов гепта- и октахлорированных, до тех пор, пока их вклад в значение TEQ не превышает 10% от общего значения TEQ, основанное на сумме ПХДД/Ф и диоксиноподобных ПХБ. Для методов скрининга восстановление должно быть в пределах 30-140%.

6) Разделение диоксинов из хлорированных интерферентных соединений, таких как ПХБ, не схожих с диоксином и хлорированным дифенилэтером, достигается с помощью адекватных соответствующих хроматографических методов, желательна на колонке флорисила, алюминия и/или угольной.

7) Разделение изомеров методом газовой хроматографии составляет < 25% от пика до пика между 1,2,3,4,7,8-НхCDF и 1,2,3,6,7,8-НхCDF.

8) Определение тетра-октохлорированных диоксинов и фуранов достигается за счет изотопного разбавления HRGC/HRMS.

9) Разница между верхним и нижним пределом не должна превышать 20% для кормов, характеризующихся заражением диоксином в пределах, или превышающих максимальный уровень заражения. Для кормов со значительно более низкими уровнями заражения разница может быть в диапазоне 25-40%.

2.7. Аналитические методы для обнаружения

2.7.1.1. Скрининг-подход

Могут применяться различные аналитические подходы с использованием метода скрининга.

Реакция образцов сравнивается с ориентировочным образцом до уровня интересов.

Требования:

1) В каждую исследуемую серию необходимо включать один контрольный образец и один ориентировочный, подлежащие экстрагированию и тестированию в то же время и в одинаковых условиях. Ориентировочный образец должен давать намного большие результаты по сравнению с контрольной группой.

2) Включаются дополнительные ориентировочные образцы 0,5х и 2х уровень интереса, чтобы продемонстрировать эффективность теста в промежутке интересов, для контроля уровня интереса.

3) При тестировании других матриц необходимо продемонстрировать, что ориентировочный образец или образцы

являются соответствующими, желательно с включением и образцов, которые доказали посредством HRGC/HRMS, что имеют приблизительно такой TEQ уровень, как и ориентировочный образец или иначе зараженной партии на данном уровне.

4) Поскольку внутренние стандарты не могут быть использованы в биопробах, тесты на повторяемость очень важны, чтобы получить информацию о стандартном отклонении серии тестов. Коэффициент вариации должен быть не менее 30%.

5) Для биотестирования определяются целевые соединения, возможные интерференции и максимально допустимые уровни партии.

2.7.1.2. Количественный подход

Этот подход требует стандартных серий разбавления, процедуры очистки и двойного или тройного измерения, а также проверки восстановления и партии. Результат может быть выражен как TEQ, предполагая тем самым, что соединения, которые находятся в начале сигнала, соответствуют TEQ. Это достигается с помощью ТХДД или стандартной смесью диоксинов/фуранов/диоксиноподобных ПХБ для получения калибровочной кривой для расчета уровня TEQ в экстракте и, следовательно, в образце. Полученная сумма впоследствии исправляется значением TEQ, рассчитанным для контрольного образца, с учетом примесей из растворителей и используемых химических веществ, и для восстановления - рассчитанное на основании значения TEQ из контрольного образца приблизительно качества интересующего уровня.

Часть возникающих потерь восстановления может быть установлена воздействием матрицы и/или различиями между значениями TEF в биопробах и официальными значениями TEF, установленными Всемирной организацией здравоохранения.

2.7.2. Аналитические требования для выявления

1) Обнаружение основано на аналитических методах GC/MS или биопробах. Для GC/MS методов должны использоваться требования, предусмотренные в пункте 2.6. Для клеточных биопроб установлены специальные требования, изложенные в подпункте 2.7.3, а для биопроб, осуществленных с помощью диагностических тестов, установлены специальные требования, указанные в подпункте 2.7.4.

2) Необходима информация о количестве ложных положительных и отрицательных результатов, полученных для большого набора образцов, превышающих или находящихся ниже максимального уровня или уровня вмешательства, в сравнении с установленным содержанием TEQ, как это определено аналитическим методом подтверждения. Фактическая доля ложного отрицательного количества должна быть ниже 1%. Доля ложного положительного количества достаточно ниже, чтобы сделать более эффективным использование инструмента по выявлению.

3) Положительные результаты должны подтверждаться каждый раз методом анализа соответствия HRGC/HRMS.

Образцы из широкого спектра TEQ подтверждаются HRGC/HRMS примерно 2-10% отрицательных образцов. Поставляется информация о соответствии результатов биотестирования и HRGC/HRMS.

2.7.2.1. Биоаналитическими методами являются методы, основанные на использовании биологических принципов, таких как тесты на основе клеток или рецепторов или иммунодозировки. Настоящий подпункт устанавливает требования для биоаналитических методов в общем.

Метод скрининга, в принципе классифицирующий пробу как соответствующую. С этой целью рассчитанный уровень BEQ сравнивается с предельным значением. Пробы до предельного значения объявляются соответствующими, пробы равные и более предельного значения, подозреваются как несоответствующие, требующие анализа подтверждающим методом.

На практике, один уровень ВЕО, соответствующий 2/3 максимального уровня, может служить предельным значением при условии обеспечения ложного соответствующего коэффициента до 5% и принятую ставку для ложных несоответствующих результатов.

Различными максимальными уровнями для ПХДД/ПХДФ и для суммы ПХДД/ПХДФ и ПХБ типа диоксинов, проверка соответствия проб без деления требует соответствующих предельных значений биотестов для ПХДД/ПХДФ. Для проверки проб, превышающих пороги действия, соответствующий процент соответствующего порога действия считается предельным значением.

2.7.3. Особые требования для клеточных биопроб

1) При осуществлении биопробы каждый тест требует ряд ориентировочных концентраций ТХДД или смеси диоксинов/фуранов, что представляет собой кривую доза-эффект в комплекте с $R^2 > 0,95$. Тем не менее, может быть использована кривая с низким уровнем расширения для анализа образцов с низким содержанием.

2) Для результатов анализа биологической активности в постоянном интервале времени используют на контрольном листе качества ориентировочную ТХДД концентрацию, примерно в три раза превышающую предел квантификации.

3) Графики контроля за качеством для каждого типа ориентировочного материала регистрируются и проверяются, с тем чтобы убедиться, что результат соответствует установленным правилам.

4) Для количественных расчетов выполнение разбавления образца должно быть в пределах линейного участка ответной кривой. Образцы, расположенные выше линейной части ответной кривой, должны быть разбавлены и повторно проверены. Тестирование проводится не менее чем один раз в три разведения.

5) Процент стандартного отклонения не превышает 15% в трехразовом определении для каждого разбавленного образца и 30% в трех независимых испытаниях.

6) Предел обнаружения может быть установлен в 3-х стандартном отклонении контрольного растворителя или фонового ответа. Другой подход заключается в применении ответа, который превышает фоновый ответ - фактор индукции в 5х раз выше, чем контрольный растворитель, рассчитанный из калибровочной кривой на день. Предел квантификации может быть определен как значение от 5х до 6х стандартного отклонения контрольного растворителя или фонового ответа или применяются ответные меры, которые явно превосходят фоновый ответ - фактор индукции в 10х раз выше, чем контрольный растворитель, рассчитанный из калибровочной кривой на день.

2.7.4. Особые требования для биопроб, выполненных на основании диагностических тестов

1) Чтобы была гарантия, что наборы на основе биопроб имеют достаточную чувствительность и надежность для применения их к кормам.

2) Чтобы соблюдались инструкции производителя при подготовке и анализе проб.

3) Диагностические тесты не используют после истечения срока годности.

4) Не используют материалы или компоненты, предназначенные для применения с другими комплектами.

5) Диагностические тесты хранятся при температуре, расположенной в пределах указанного диапазона, и используются при указанной рабочей температуре.

6) Предел обнаружения для иммунодозировки определяется как средняя сумма и значения в 3х стандартном отклонении, основанная на

серии 10 повторных контрольных анализов, которая делится на пятиступенчатое значение линейного уравнения регрессии.

7) Для лабораторных испытаний используются стандартные наборы, чтобы гарантировать, что результат измерения находится в пределах допустимого диапазона.

2.8. Отчетность о результатах

Если использованный метод исследования позволяет, то аналитические результаты содержат индивидуальные уровни аналогов ПХДД/Ф и диоксиноподобных ПХБ; аналитические результаты соотносятся к нижнему, верхнему и среднему уровню для максимального включения информации в отчетность о результатах, позволяющему интерпретацию результатов в соответствии с конкретными требованиями.

Отчетность также включает содержание липидов образца и метод, используемый для экстракции липидов.

Должна быть доступной информация о восстановлении отдельных внутренних стандартов, если восстановление выходит за пределы, указанные в пункте 2.6., когда превышает максимальный уровень.

Так, когда устанавливается соответствие образца, и необходимо учитывать погрешность измерения, этот параметр должен быть доступен. Анализ результатов сопоставим как $x \pm U$, где « x » является аналитическим результатом и « U » является расширенной неопределенностью измерения с использованием покрытия в 2 раза, и уровнем достоверности примерно 95%. В случае отдельных определений диоксинов и диоксиноподобных ПХБ сумма предполагаемой расширенной неопределенности отдельных результатов анализа диоксинов и диоксиноподобных ПХБ используется для суммы диоксинов и диоксиноподобных ПХБ.

Если погрешность измерения учитывается путем применения ССа, этот параметр сообщается.

2.8.1. Подготовка проб и требования относительно аналитических методов, используемых для официального контроля уровней ПХБ, не типа диоксинов (ПХБ # 28, 52, 101, 138, 153, 180).

Требования, установленные в настоящей главе, применяются, когда анализируются для официального контроля уровней полихлорированных бифенилов, не типа диоксинов, ПХБ, не типа диоксинов, а также в иных регламентирующих целях.

В качестве применяемого метода используется газохроматографический метод с детектором электронного захвата (GC-CDE, GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS) или эквивалентные методы.

В смысле идентификации и подтверждения аналитов интереса время задержания является относительным в соотношении с внутренними и ориентировочными пробами, с допустимым отклонением $\pm 0,25$ %.

Газохроматографическое разделение всех шести индикаторных ПХБ, а именно ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 138, ПХБ 153 и ПХБ 180, от интерферирующих веществ, в частности, ко-элюентных ПХБ, особенно, в случае, когда уровни проб находятся в законных пределах, и несоответствие должно подтверждаться, образцы, в отношении которых установлено, что они часто являются ко-элюентами, как, например, ПХБ 28/31, ПХБ 52/69 и ПХБ 138/163/164. Для GC-MS необходимо учитывать и возможные помехи со стороны наиболее сильно хлорированных фрагментов образцов.

Требования для техник GC-SM

Мониторинг, по крайней мере :

1) двух специальных ионов для HRMS;

2) двух специальных ионов $m/z > 200$ или трех специальных ионов $m/z > 100$ для LRMS;

3) одного предшествующего иона и 2 ионов продукта для MS-MS.

Относительное отклонение относительного изотопического изобилия для отобранных массовых фрагментов и теоретическая ценность изотопического изобилия или проба для целевого иона, который представляет собой контролируемый ион с самым повышенным изотопическим изобилием, и качественный(е) ион(ы) представлены в таблице 3.

Таблица 3

Относительная интенсивность качественного(ых) иона(ов) в сравнении с целевым ионом	GC-EI-MS (относительное отклонение)	GC-CI-MS, GCMSn (относительное отклонение)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % к 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % к 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (1)	± 50 % (1)
Количество массовых фрагментов с относительной интенсивностью > 10 %, следовательно, не рекомендуется использовать качественный(е) ион(ы) с относительной интенсивностью менее 10 % в сравнении с целевым ионом.		

Достижение метода проявляется в интервале максимального уровня от 0,5 до 2 раз максимального уровня, с допустимым коэффициентом колебания для повторного анализа.

Контрольные значения не более 30% от уровня заражения, соответствующего максимальному уровню.

2.8.2 Контроль восстановлений

Используются внутренние пробы с физико-химическими свойствами, сравнимыми со свойствами аналитов интереса.

1) Требования к методам, используемым всеми шестью пробами индикаторных ПХБ, отмеченных изотопом:

а) результаты скорректированы для восстановления внутренних проб;

б) восстановления внутренних проб, отмеченных изотопом, составляют между 50 и 120 %;

с) нижние и верхние восстановления для индивидуальных образцов с вкладом в сумму шести индикаторных ПХБ ниже 10% допускаются.

2) Требования относительно методов, которые не используют шесть внутренних проб, отмеченных изотопом, или другие внутренние пробы:

а) восстановление внутренней(их) пробы (проб) контролируется для каждой пробы;

б) восстановления внутренней(их) пробы (проб) составляет между 60 и 120 %;

с) результаты корректируются для восстановлений внутренних проб.

Показательные характеристики: критерии для суммы всех шести индикаторных ПХБ на максимальном уровне

Достоверность	– 30 до + 30 %
Промежуточная точность (RSD %)	≤ 20 %

Разница между верхней и нижней оценкой расчета	$\leq 20 \%$
--	--------------

2.8.3 Отчетность о результатах

В той мере, в которой используемая аналитическая процедура позволяет это, аналитические результаты включают уровни отдельных соединений ПХБ и указываются низшая, высшая и средняя оценки для предоставления большего количества информации в отчете о результатах, что позволяет толкование результатов в соответствии со специальными требованиями.

Отчет включает метод, используемый для экстракции ПХБ и липидов.

Восстановления индивидуальных внутренних проб возможно, в случае если восстановления происходят за пределами интервала, указанного в подпункте 2.8.2 настоящего приложения, если превышает максимальный уровень, в иных случаях, по требованию.

Когда принимается решение о соответствии пробы, в учет принимается неопределенность измерения, данный параметр также предоставляется в распоряжение.

Аналитические результаты соотносятся как $x \pm U$, где «x» является аналитическим результатом и «U» является расширенной неопределенностью измерения с использованием покрытия в 2 раза и уровнем достоверности примерно 95%.

В случае если во внимание принимается неопределенность измерения посредством применения ССа, данный параметр соотносится.

Результаты выражаются в тех же единицах и посредством минимум того же количества десятых, как максимальные уровни, предусмотренные в Постановлении Правительства № 1405 от 10

декабря 2008 года «Об утверждении Ветеринарно-санитарной нормы по гигиене кормов и содержанию нежелательных веществ в кормах.

[анеха nr.6](#)

Приложение № 6
к Постановлению Правительства
№ 686 от 13 сентября 2012 г.

МЕТОДЫ АНАЛИЗА

по определению компонентов животного происхождения

для официального контроля кормов

1. УСЛОВИЯ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ, ИДЕНТИФИКАЦИИ И ОЦЕНКИ ПУТЕМ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В КОРМАХ

1.1. Цель и область применения

Настоящие условия используются для обнаружения компонентов животного происхождения, определяемых как продукты переработки туш или частей тела млекопитающих, домашних птиц и рыб, в корме на основании микроскопического исследования в рамках скоординированной программы инспекции в области кормления животных.

Определение компонентов животного происхождения в кормах осуществляется посредством оптической микроскопии или цепной

реакции полимеразы (PCR) в соответствии с положениями, установленными в настоящем приложении.

Данные два метода делают возможным обнаружение наличия компонентов животного происхождения в сырье для кормов и комбикормов. Однако они не делают возможным расчет количества данных компонентов в сырье для кормов и комбикормов. Оба метода имеют предел обнаружения до 0,1% г/г.

Метод PCR делает возможным идентификацию таксономической группы компонентов животного происхождения, присутствующих в сырье для кормов и комбикормов.

В зависимости от типа корма в процессе тестирования данные методы могут быть использованы в ходе одного единственного операционного протокола или по отдельности либо вместе в соответствии со стандартными операционными процедурами, установленными референтной лабораторией Европейского союза для обнаружения животных белков в корме для животных, опубликованными на ее официальной веб-странице.

1.2. Чувствительность

В зависимости от компонентов животного происхождения возможно обнаружение очень малых количеств (< 0,1%) в кормах.

1.3. Принцип применения

Для обнаружения используется репрезентативный образец, отобранный в соответствии с указаниями приложения № 1, который прошел соответствующую подготовку. Протокол, описанный в пункте 1.9 настоящего приложения, подходит для обработки корма с низким содержанием влаги.

Корма с влажностью, превышающей 14%, высушиваются до начала обработки. Корма и специальное сырье, например, жиры или масла, подвергаются специальной обработке, предусмотренной в пункте 1.9 настоящего приложения.

Компоненты животного происхождения определяются на основании типичных характеристик, идентифицируемых микроскопическим исследованием, например, мышечных волокон и других частиц мяса, хряща, костей, рогов, волос, щетины, крови, перьев, яичной скорлупы, костей и рыбной чешуи.

Определение должно осуществляться как для отсеянных фракций, в соответствии с положениями, описанными в подпункте 1.6.1, а также концентрированных осадков образца, в соответствии с положениями подпункта 1.6.2 настоящего приложения.

1.4. Применяемые реагенты

1.4.1. Используемые агенты

1.4.1.1 Тетрахлорэтилен весом 1,62.

1.4.1.2 Ализарин красный разбавляют 2,5 мл 1М соляной кислоты в 100 мл воды и добавляют 200 мг раствора ализарина красного.

1.4.1.3. Хлоргидрат (водный раствор, 60% вес/объем).

1.4.1.4. Раствор золы (NaOH 2,5% в/о или KOH 2,5% вес/объем) для отсеивающих фракций.

1.4.1.5. Парафиновое масло или глицерин с вязкостью: 68-81 для микроскопического исследования осадка.

1.4.1.6 Norland[®] Optical Adhesive 65 (вязкость: 1 200 cP) или смола с эквивалентными свойствами для подготовки постоянных пластинок.

1.4.1.7 Реактив Фелинга, подготовленный до использования в равных частях 1/1 двух базовых растворов А и В: Раствор А: растворить

6,9 г сульфата меди пятиводного (II) в 100 мл воды. Раствор В: растворить 34,6 г тетрагидрат тартрата калия-натрия и 12 г NaOH в 100 мл воды.

1.4.1.8 Тетраметилбензидин/Пероксид водорода – растворить 1 г 3,3',5,5' тетраметилбензидина в 100 мл уксусной кислоты ледяной и 150 мл воды. До использования размешать четыре части данного раствора тетраметилбензидина с одной частью пероксида водорода 3%.

1.4.2. Раствор для промывания

1.4.2.1. Алкоголь, 96%.

1.4.2.2. Ацетон.

1.4.3. Концентрированный агент

1.4.3.1. Тетрахлорэтилен с плотностью 1,62.

1.4.4. Реагенты для окрашивания

1.4.4.1. Раствор йода/йодистый калий. Растворяют 2 г йодистого калия в 100 мл воды и добавляют 1 г йода, часто помешивая.

1.4.4.2. Ализарин красный. Разбавляют 2,5 мл 1М соляной кислоты в 100 мл воды и добавляют 200 мг раствора ализарина красного.

1.4.4.3. Раствор цистина. 2 г ацетатного свинца, 10 г NaOH/100 мл H₂O.

1.4.4.4. Раствор йода/йодистый калий - растворенный в этаноле 70%.

1.4.5. Отбеливающий реагент

1.4.5.1 Коммерческий раствор гипохлорида натрия с концентрацией 9-14% активного хлора.

1.5. Оборудование и аксессуары

1.5.1. Аналитические весы, точностью 0,001 г, за исключением концентрированного осадка: 0,001 г.

1.5.2. Устройство для измельчения (мельница или ступка, особенно для корма, содержащего > 15% жира, обнаруженного при анализе).

1.5.3. Решето с квадратными отверстиями с максимальной шириной 0,25 мм и длиной 1 мм.

1.5.4. Воронка для разделения или лабораторный стакан для сцеживания с коническим дном.

1.5.5. Стереоскопический микроскоп (увеличение не менее чем в 40 раз).

1.5.6. Современный микроскоп (увеличение не менее чем в 400 раз) проходящий свет или поляризованный свет.

1.5.7. Стандартная лабораторная посуда

1.5.8. Оборудование для подготовки пластинок: классические стекла для микроскопа, трубчатые стекла, стекла с покрытием размером 20 x 20 мм, пинцет, тонкий шпатель.

Все оборудование тщательно очищено. Воронка для разделения и стеклянная посуда промываются в посудомоечной машине. Решето необходимо очищать жесткой зубной щеткой.

1.6. Процедура подготовки

Во избежание перекрестного заражения в лаборатории, все оборудование многократного пользования тщательно очищается перед использованием. Части воронки для разделения разбираются перед очисткой. Части воронки для разделения и посуда промываются вручную, а затем в посудомоечной машине. Решето очищается жесткой

синтетической зубной щеткой. Рекомендуется финальная очистка решета с помощью ацетона и сжатого воздуха после просеивания крупного сырья, как, например, рыбная мука.

Если обе фракции анализировались как отдельные образцы, кормовые гранулы предварительно просеиваются.

Не менее 50 г образца рассматриваются, в случае необходимости, осторожно перемалываются с помощью устройства для измельчения в целях достижения соответствующей структуры. Из измельченного материала отбираются две представительные части, одна – для просеянной фракции, не менее 5 г, имея в виду отметки подпункта 1.6.1 настоящего приложения, и одна – для концентрированного осадка, не менее 5 г, имея в виду отметки подпункта 1.6.2 настоящего приложения. Для идентификации применяют дополнительно окрашивание реагентом для окрашивания в соответствии с положениями подпункта 1.6.3 настоящего приложения.

Чтобы указать характер животного белка и происхождение частиц может быть использована система поддержки для принятия решения типа ARIES и могут быть документированы ориентировочные образцы.

1.6.1 Для анализа образцов, иных чем жиры и масла

Образцы влажностью > 14 % высушиваются перед обработкой.

Рекомендуется предварительно просеять через 1 мм корма в форме гранул или зерен и затем подготавливаются и анализируются обе фракции в качестве различных образцов.

Разделение на подобразцы и измельчение: минимум 50 г образца представляют собой подобразцы для анализа и дальнейшего измельчения.

1) Извлечение и подготовка осадка: часть 10 г с точностью до 0,01 г измельченного подобразца переносится в воронку для разделения или в стакан для сцеживания с коническим дном и добавляется 50 мл тетрахлорэтилена. Часть, помещенная в воронку, ограничивается 3 г, в

случае рыбной муки или других продуктов чистого животного происхождения, минеральные ингредиенты или премиксы, оставляющие осадок более 10%.

Смесь энергично встряхивается минимум 30 секунд и аккуратно добавляется еще 50 мл тетрахлорэтилена в то время, как промывается внутренняя поверхность воронки для удаления любых следов частиц. Полученную смесь оставляют минимум на пять минут до разделения осадка посредством открытия крана.

2) Если используется стакан для сцеживания с коническим дном, смесь энергично встряхивается в течение 15 секунд, частицы, оставшиеся на стенках стакана, тщательно промываются с внутренней поверхности минимум 10 мл чистого тетрахлорэтилена.

Смесь оставляют на 3 минуты, затем снова встряхивают в течение 15 секунд, а частицы, оставшиеся на стенках стакана, тщательно промываются с внутренней поверхности минимум 10 мл чистого тетрахлорэтилена. Полученную смесь оставляют минимум на 5 минут, затем удаляется жидкая часть, и удаляется посредством осторожного сцеживания, чтобы из осадка ничего не было утеряно.

3) Осадок высушивается и взвешивается на весах с точностью до 0,001 г. Если более 5% осадка составляют частицы > 0,50 мм, они просеиваются при 0,25 мм, и изучаются полученные две фракции.

4) Извлечение и подготовка флотационного шлама: после восстановления осадка путем вышеописанного метода, должны остаться две фазы в воронке для разделения: одна жидкая, состоящая в тетрахлорэтилене, и одна твердая, состоящая из материала, который плавает. Данная твердая фаза является флотационным шламом, который восстанавливается, вылив весь тетрахлорэтилен из воронки посредством открытия крана. Путем переверачивания воронки для разделения флотационный шлам переходит в большую чашку Петри и высушивается на воздухе в вытяжном зонте. Если более 5%

флотационного шлама составляют частицы > 0,50 мм, они просеиваются при 0,25 мм, и изучаются полученные две фракции.

5) Подготовка сырья: подготавливается одна часть минимум 5 г измельченного подобразца. Если более 5% сырья составляют частицы > 0,50 мм, они просеиваются при 0,25 мм, и изучаются полученные две фракции.

1.6.2. Идентификация компонентов животного происхождения из просеянных фракций

Образец не менее 5 г просеивают через решето на две фракции.

Доля (доли) просеянной (просеянных) с большими частицами (или представительная часть фракции) наносится тонким слоем на подходящую поддержку и исследуется систематически под стереомикроскопом с различными увеличениями для выявления компонентов животного происхождения.

Подготовленные стекла с фракцией (фракциями) с мелкими частицами проверяются систематически под современным микроскопом с различными увеличениями для выявления компонентов животного происхождения.

1.6.3. Идентификация компонентов животного происхождения из концентрированного осадка

Не менее 5 г, взвешенные на весах с точностью до 0,001 г, образца переносят в делительную воронку или лабораторный стакан для сцеживания с коническим дном и обрабатывают не менее чем 50 мл тетрахлорэтилена. Смесь взбалтывается или перемешивается несколько раз.

1) При использовании закрытой воронки для разделения, осадок оставляют на не менее чем три минуты перед отделением. Повторно взбалтывают и осадок отстаивают в течение не менее трех минут.

Отделяют осадок снова.

2) При использовании открытого лабораторного стакана осадок оставляют, по крайней мере, на пять минут перед отделением.

Общий осадок сушат и взвешивают на весах с точностью до 0,001 г. Взвешивание требуется только при необходимости определения. Если осадок содержит много крупных частиц, его просеивают через решето на две фракции.

Сушенный осадок исследуют под стереомикроскопом и с помощью современного микроскопа для обнаружения костных компонентов.

1.6.4 Подготовка образцов из жиров и масел

Для подготовки образцов из жиров и масел применяется следующая процедура:

- 1) если жир твердый, он нагревается в печи до жидкого состояния;
- 2) с помощью пипетки 40 мл жира или масла перемещают из внутренней части образца в барабан центрифуги;
- 3) подвергается центрифугированию в течение 10 мин при 4000 об/мин.;
- 4) если жир становится твердый после центрифугирования, нагреть в печи до жидкого состояния;
- 5) повторить центрифугирование в течение 5 минут при 4000 об/мин.;
- 6) с помощью маленькой ложки или шпателя половину отстоявшихся примесей перенести на рассмотрение на микроскопическую пластину – рекомендуется использование глицерола в качестве средства укладки;

1.6.5. Использование включенных агентов и реагентов для окрашивания

Для облегчения идентификации микроскопом микроскопических компонентов животного происхождения могут быть использованы включенные агенты и специальные реагенты для окрашивания.

Гидрохлорид: путем осторожного нагревания клеточные структуры видны более четко в результате того, что гранулы крахмала застывают, а нежелательное клеточное содержимое удаляется.

Щелок: как гидроксид натрия, так и гидроксид калия проясняют содержимое корма, что облегчает обнаружение мышечных волокон, волос или других кератиновых структур.

Парафиновое масло и глицерин: костные соединения могут быть четко идентифицированы в составе включенных агентов, потому что большинство пробелов остаются заполненными воздухом и выглядят, как черные дыры примерно от 5 до 15 мкм.

Раствор йода/йодированного калия: используется для определения крахмала сине-фиолетового цвета и белка желто-оранжевого цвета. При необходимости, раствор может быть отделен.

Раствор красного ализарина: окрас костей, в том числе костей и чешуи рыбы, красный, розовый. Перед высушиванием осадка, в соответствии с положениями подпункта 1.6.2 настоящего приложения, весь осадок перемещают в стеклянный сосуд и дважды промывают 5 мл спирта, каждый раз используя шейкер, а растворитель оставляют в течение одной минуты и устраняют.

Прежде чем использовать этот реагент для окраски, осадок обесцвечивают, добавляя не менее 1 мл раствора гипохлорита натрия. Допускают, чтобы реакция продолжалась в течение 10 минут. Сосуд заполняют водой, ожидают 2-3 минуты, чтобы осадок отсекся, а воду и частицы суспензии устраняют.

Осадок промывают еще два раза примерно с 10 мл воды, каждый раз используется шейкер, а затем оставляют и далее исключают воду. В зависимости от суммы остатка, добавляют от двух до десяти или больше

капель раствора ализарина красного. Смесь встряхивают и ожидают реакции в течение нескольких секунд.

Цветной осадок дважды промывают 5 мл спирта, затем один раз с ацетоном, каждый раз используя шейкер, растворитель оставляют в течение одной минуты и устраняют. После этого осадок готов для высушивания.

Реактивный цистин: путем тщательного нагревания компоненты, содержащие цистин, как, например, волосы, перья и т.д., становятся черно-коричневого цвета.

1.6.6. Исследование восприимчивых кормов, содержащих рыбную муку

Исследуют с помощью современного микроскопа в соответствии с положениями подпунктов 1.6.1 и 1.6.2 настоящего приложения, не менее одной пластины измельченной мелкой фракции и мелкой фракции осадка.

Если этикетка указывает на наличие рыбной муки в ингредиентах или подозревается или обнаружено присутствие рыбной муки в первоначальном исследовании, рассматривается не менее двух пластин мелкой измельченной фракции исходного образца, а также общая доля осадка.

1.6.7. Микроскопические пластинки подготавливаются из осадка и, в зависимости от выбора оператора, или из флотационного шлама или из сырья. В случае использования просеивания во время подготовки образцов, подготавливаются две фракции – тонкая и грубая.

Тестируемые части из фракций, растянутые на стеклах, должны быть представительными для всей фракции.

Микроскопические пластинки устанавливаются соответствующим средством для укладки в соответствии со стандартными оперативными процедурами, установленными референтной лабораторией Европейского союза для обнаружения животных белков в корме для

животных, и опубликованными на ее официальной веб-странице. Пластинки покрываются покрывающими стеклами.

Микроскопические замечания осуществляются с использованием современного микроскопа на осадке и, в зависимости от выбора оператора, или на флотационном шламе, или на сырье. Стереоскопический микроскоп может быть использован дополнительно к современному микроскопу для грубых фракций. Каждое стекло рассматривается полностью при различных усилениях.

Минимальное количество стекол, которое должно изучаться на каждом этапе процедуры изучения, должно строго соблюдаться, за исключением случая, когда весь материал фракции не позволяет достичь предусмотренного количества стекол. Не изучается более 6 стекол для каждого определения.

Для облегчения идентификации природы и происхождения частиц, оператор может использовать поддерживающие инструменты, такие как система принятия решений, библиотека изображений и ориентировочные образцы.

1.6.8 Количество определений

Если вследствие первого определения, выполненного в соответствии с процедурой изучения, не обнаруживается ни одна частица животного происхождения определенной природы, как наземные животные или рыбы, нет необходимости в дополнительном определении.

Если вследствие первого определения, выполненного в соответствии с процедурой изучения, при необходимости, общее количество обнаруженных частиц животного происхождения определенной природы, как, например, наземные животные и рыбы, варьирует от 1 до 5, проводится второе определение, исходя из нового подобразца в 50 г.

Если вследствие второго определения количество обнаруженных частиц животного происхождения определенной природы варьирует от 0 до 5, результат анализа сообщается с использованием терминологии, установленной в пункте 1.6 настоящего приложения, если нет, проводится третье определение, исходя из нового подобразца в 50 г.

В случае если вследствие первого и второго определения сумма частиц определенной природы, обнаруженных при двух определениях более 15, нет необходимости в дополнительном определении, а результат анализа сообщается напрямую с использованием терминологии, установленной в пункте 1.6 настоящего приложения. Если вследствие третьего определения сумма частиц животного происхождения определенной природы, обнаруженных в ходе трех определений, превышает 15, результат анализа сообщается с использованием терминологии, установленной в пункте 1.6 настоящего приложения.

1.7. Расчет и оценка

Компетентный санитарно-ветеринарный орган должен обеспечить, чтобы процедуры, описанные в настоящем пункте, использовались для всех официальных тестов в целях оценки количества, а не только наличия компонентов животного происхождения.

Расчет может быть сделан только в том случае, если компоненты животного происхождения содержат фрагменты костей.

Костные фрагменты наземных видов с теплой кровью, как, например, млекопитающие и птицы, могут отличаться от различных типов рыбных костей на микроскопической пластине, с помощью типичного недостатка. Доля состава животных компонентов в образце оценивается с учетом:

1) расчетной доли в % по весу костных фрагментов в концентрированном осадке; и

2) соотношения в % по весу кости в компонентах животного происхождения.

Для оценки исследуются, если возможно, не менее трех пластин и не менее пяти полей для каждой пластины. В комбикорме концентрированный осадок обычно содержит не только фрагменты костей наземных животных и рыбных костей, но и других частиц с высоким удельным весом, таких, как минералы, песок, одревесневшие фрагменты растений и другие.

1.7.1. Предполагаемый процент костных фрагментов

1) % костных фрагментов наземных животных = $(S \times c)/g$;

2) % костных фрагментов и рыбьей чешуи = $(S \times d)/g$,

где:

S = вес осадка в мг;

c = коэффициент поправки % для оцениваемой части костей наземных животных в осадке;

d = коэффициент поправки % для оцениваемой части рыбных костей и чешуи из осадка;

g = вес образца для оседания в мг.

1.7.2. Ориентировочное значение составляющих животного происхождения

Если тип муки животного происхождения, присутствующей в образце, известен, можно оценить содержание:

1) расчетное содержание компонентов наземных животных продуктов:

$$(\%) = (S \times c)/(g \times f) \times 100;$$

2) расчетное содержание компонентов рыбной продукции:

$$(\%) = (S \times d)/(g \times f) \times 100,$$

где:

S = вес осадка в мг;

c = коэффициент поправки % для оцениваемой части сформированных костей наземных животных в осадке;

d = коэффициент поправки % для оцениваемой части рыбьих костей и чешуи из осадка;

f = коэффициент поправки на долю сформированных костей животного происхождения в исследуемом образце;

g = вес образца для оседания в мг.

1.8. Выражение результатов исследования

Отчет содержит, как минимум, информацию о наличии компонентов, происходящих от наземных животных и из рыбной муки. Различные случаи взаимоотносятся в порядке, описанном в подпунктах 1.8.1 и 1.8.2.

1.8.1. Что касается присутствия компонентов, происходящих от наземных животных:

1) насколько было заметно под микроскопом, в исследуемом образце не было выявлено компонентов, происходящих от наземных животных, или

2) насколько было видно под микроскопом, в исследуемом образце были обнаружены компоненты, происходящие от наземных животных.

1.8.2. Что касается присутствия в рыбной муке:

1) насколько было видно под микроскопом, ни один компонент, происходящий от рыбы, не был обнаружен в образце, или

2) насколько было видно под микроскопом, в исследуемом образце были обнаружены компоненты, происходящие от рыбы.

При обнаружении компонентов, происходящих от рыбы и наземных животных, отчет о результатах обследования, при необходимости, может указывать на оценку количества обнаруженных компонентов (x%, < 0,1%, от 0,1 до 0,5%, от 0,5 до 5% или > 5%), дополнительные характеристики о видах наземных животных, если это возможно, а также выявленные компоненты животного происхождения как мышцы, хрящ, кости, рога, волосы, щетина, перья, кровь, яичная скорлупа, рыбные кости, чешуя.

В случае, когда оценивается предполагаемое количество компонентов животного происхождения, указывается используемый коэффициент поправки "f".

В случае, когда определены компоненты, полученные от наземных животных, отчет содержит дополнительное примечание: «Не исключена возможность происхождения вышеуказанных компонентов от млекопитающих».

Эта дополнительная информация не является необходимой, если костные частицы, происходящие от наземных животных, определяются, как костные частицы, происходящие от домашних птиц или от млекопитающих.

1.9. Факультативный протокол для анализа жиров или масел

Для анализа жиров или масел можно использовать следующий протокол:

1) Если жир твердый, он нагревается, например, в микроволновой печи, пока не станет жидким.

2) С помощью пипетки перемещают 40 мл жира из нижней части образца в центрифугированную трубку.

3) Подвергается центрифугированию в течение 10 минут при 4000 оборотах в минуту.

4) Если жир становится твердым после центрифугирования, он нагревается снова в духовке, пока не станет жидким.

Центрифугирование повторяется в течение пяти минут при 4000 оборотов в минуту.

5) С помощью маленькой ложки или шпателя переводят половину сцеживаемых примесей в чашку Петри или на микроскопическую пластинку для микроскопического определения возможного содержания компонентов животного происхождения, как например, волокна мяса, перья, костные частицы. Как включенное средство для микроскопии рекомендуются парафиновые масла или глицерин.

6) Оставшиеся примеси используются для осаждения, согласно описанию в подпункте 1.6.2.

7) Оставшиеся примеси используются для приготовления осаждения, согласно описанию в подпункте 1.6.1.

1.9.1 Использование агентов для окрашивания

Для облегчения правильного определения составляющих животного происхождения оператор может использовать агентов для окрашивания во время подготовки образцов в соответствии с направлениями, установленными референтной лабораторией Европейского союза для обнаружения животных белков в корме для животных, и опубликованными на ее официальной веб-странице.

В случае использования раствора красного ализарина для окрашивания осадков применяется следующий протокол:

1) сушеный осадок перемещают в стеклянный сосуд и дважды промывают 5 мл этанола, каждый раз используя шейкер в течение 30 секунд, растворитель оставляют в течение одной минуты и 30 секунд и устраняют посредством литья;

2) осадок обесцвечивают, добавляя не менее 1 мл раствора гипохлорита натрия. Допускают, чтобы реакция продолжалась в течение 10 минут. Сосуд заполняют водой, ожидают 2-3 минуты, чтобы осадок отделился, а воду и частицы суспензии легко устраняют посредством литья;

3) осадок промывают еще два раза примерно с 10 мл воды. Используется шейкер в течение 30 секунд, а затем оставляют и далее исключают воду посредством литья каждый раз;

4) добавляют от двух до десяти капель раствора ализарина красного, смесь встряхивают. Разрешается провести реакцию в течение 30 секунд. Цветной осадок дважды промывают 5 мл этанола, затем один раз с ацетоном. Каждый раз используется шейкер в течение 30 секунд. Растворитель оставляют в течение одной минуты и устраняют посредством литья;

5) цветной осадок подготовлен для высушивания.

1.10 Определение составляющих животного происхождения в корме полимеразы (PCR)

Фрагменты дезоксирибонуклеиновой кислоты (в дальнейшем – ДНК) животного происхождения, которые могут присутствовать в сырье для кормов и комбикормов, обнаруживаются методом генетического усиления посредством PCR, которое относится к отрезкам ДНК, характерным для вида.

Метод PCR требует, в первую очередь, этапа экстракции ДНК. Этап усиления применяется после экстракции ДНК, полученного подобным образом, с целью обнаружения видов животных, предназначенных для тестирования.

1.10.1 Реагенты и оборудование, реагенты для этапа экстракции ДНК

Используются только реагенты, утвержденные референтной лабораторией Европейского союза, для обнаружения животных белков в корме для животных, и опубликованные на ее официальной веб-странице.

Используются только ранние плоды и зонды с отрезками олигонуклеотидов, утвержденных референтной лабораторией Европейского союза для обнаружения животных белков в корме для животных.

1.10.2 Используются только растворы основной смеси, которые не содержат реагенты, способные привести к ложным результатам в связи с наличием животного ДНК:

- 1) реагенты для обеззараживания;
- 2) раствор соляной кислоты – 0,1 N;
- 3) отбеливатель – раствор гипохлорита натрия 0,15 % активного хлора;
- 4) некоррозионные реагенты для обеззараживания дорогостоящих устройств, таких как аналитические весы, например, DNA Erase™ MP Biomedicals;
- 5) оборудование;
- 6) аналитические весы с точностью 0,001 г;
- 7) оборудование для измельчения;
- 8) амплификтор, позволяющий PCR в реальном времени;

- 9) микроцентрифуга для барабанов микроцентрифугирования;
- 10) набор микропипеток, позволяющих ввод пипеткой от 1 μ l до 1000 μ l;
- 11) стандартный пластический материал молекулярной биологии: барабаны микроцентрифугирования, фильтрованные пластиковые верхушки для микропипеток, пластинки для амплификатора;
- 12) морозилки для хранения образцов и реагентов.

1.10.3 Подготовка проб

Подготовка лабораторных проб до экстракции ДНК соблюдает требования, предусмотренные в приложении № 2 к настоящему постановлению. Минимум 50 г пробы представляют подобразцы для анализа и последующего измельчения.

Подготовка проб осуществляется в помещении, отличном от помещений, предназначенных для экстракции ДНК и реагентов генетического усиления, описанных в ISO 24276.

Подготавливаются две тестируемые части минимум 100 мг каждая.

1.10.4 Экстракция ДНК

Экстракция ДНК осуществляется на каждой подготовленной тестируемой части с использованием процедур СОП, установленных референтной лабораторией Европейского союза для обнаружения животных белков в корме для животных, и опубликованных на ее официальной веб-странице. Подготавливаются для контроля экстракции для каждой серии экстракции, описанной в ISO 24276:

- 1) контрольная проверка экстракции;
- 2) проверка экстракции положительного ДНК.

Генетическое усиление осуществляется с использованием методов, утвержденных для каждого вида, требующего идентификации. Данные методы предусмотрены в процедурах СОП, установленных

референтной лабораторией Европейского союза для обнаружения животных белков в корме для животных, и опубликованных на ее официальной веб-странице. Каждый экстракт ДНК анализируется минимум в двух различных растворителях с целью оценки подавления.

Подготавливаются два контроля усиления для каждого целевого вида, как они описаны в ISO 24276:

1) используется целевой контроль положительного ДНК для каждой пластинки или серии тестов PCR;

2) используется контроль реагента усиления, именуемого также контроль без образца, для каждой пластинки или серии тестов PCR.

1.10.5 Толкование и выражение результатов

Тогда, когда сообщает результаты, лаборатория указывает минимум вес использованной тестируемой части, использованное средство для экстракции, количество проведенных определений и предел обнаружения метода.

Результаты не интерпретируются и не сообщаются, в случае если контроль экстракции положительного ДНК и целевые контроли положительного ДНК не предоставляют положительные результаты для цели, являющейся предметом теста, в то время, как контроль реагента усиления является отрицательным.

В случае если результаты двух тестируемых частей не являются последовательными, повторяется минимум этап генетического усиления. В случае если лаборатория подозревает, что экстракции ДНК не могут стать причиной непоследовательности, проводится новая экстракция ДНК и другое генетическое усиление до толкования результатов.

Итоговое выражение результатов основывается на интеграции и толковании результатов двух тестируемых частей в соответствии с процедурами СОП, установленными референтной лабораторией Европейского союза для обнаружения животных белков в корме для животных, и опубликованных на ее официальной веб-странице.

Отрицательный результат сообщается в случае, если ни одна ДНК от X не была обнаружена в представленной пробе, где X является видом животного или группой видов животных, предусмотренных тестом.

Положительный результат сообщается в случае, если была обнаружена ДНК от X в представленной пробе, где X является видом животного или группой видов животных, предусмотренных тестом.»

ПРЕМЬЕР-МИНИСТР

Павел ФИЛИП

министр зам. иностранных дел и
европейской интеграции Андрей ГАЛБУР
министр сельского хозяйства,
регионального развития и
окружающей среды Василе Бытка
министр юстиции Владимир Чеботарь

№ 844. Кишинэу, 25 октября 2017 г.