

ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(EACC)
EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(EASC)



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
EN 14133—
2017

ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ

Определение содержания охратоксина А в вине и пиве.
Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)
с очисткой на иммуноаффинной колонке

НИФСИТР ЦСМ при МЭ КР
**РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**

(EN 14133:2009, IDT)

Издание официальное

Зарегистрирован
№ 13231
20 апреля 2017



Минск
Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации

Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации по результатам голосования в АИС МГС (протоколом от 20 апреля 2017 г. №98-П)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

Настоящий стандарт идентичен европейскому стандарту EN 14133:2009 «Foodstuffs — Determination of ochratoxin A in wine and beer — HPLC method with immunoaffinity column clean-up» («Продукты пищевые. Определение охратоксина А в вине и пиве. Метод HPLC (высокоэффективной жидкостной хроматографии) с очисткой на иммуноаффинной колонке», IDT).

Европейский стандарт разработан техническим комитетом по стандартизации CEN/TC 275 «Анализ пищевой продукции. Горизонтальные методы» Европейского комитета по стандартизации (CEN).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочного европейского стандарта соответствующий ему межгосударственный стандарт, сведения о котором приведены в дополнительном приложении ДА

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

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

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ

**Определение содержания охратоксина А в вине и пиве.
Метод высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)
с очисткой на иммуноаффинной колонке**

Foodstuffs

Determination of ochratoxin A in wine and beer.
High performance liquid chromatographic (HPLC) method
with immunoaffinity column clean-up

Дата введения — _____

Предупреждение — Охратоксин является сильным почечным и печеночным ядом и обладает иммунодепрессивным действием. Охратоксин был классифицирован Международным агентством по изучению рака (МАИР) как соединение, потенциально канцерогенное для людей (группа 2B). Ацетонитрил является опасным для здоровья. Толуол является легковоспламеняющейся жидкостью, опасной для здоровья. При работе с указанными веществами всегда необходимо соблюдать технику безопасности. При проведении испытаний в соответствии с настоящим стандартом следует надевать защитную одежду, перчатки и защитные очки и все стадии приготовления растворов и подготовки проб выполнять в вытяжном шкафу. При осуществлении действий с растворами охратоксина А вне вытяжного шкафа, например при определении оптической плотности на ультрафиолетовом спектрометре, они должны находиться в закрытых контейнерах. Обеззараживание лабораторных отходов должно выполняться в соответствии с процедурами, установленными Международным агентством по изучению рака (МАИР), см. [1].

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания охратоксина А в вине и пиве с помощью высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с очисткой на иммуноаффинной колонке, см. [2] и [3].

Метод был валидирован в соответствии с руководящими принципами Международной ассоциации официальных химиков-аналитиков [4] в ходе межлабораторного испытания по совместному исследованию, проводимому с целью валидации характеристик метода анализа. При испытании использовались пробы вина и пива, загрязненные естественным образом, а также искусственно загрязненные пробы с концентрацией охратоксина А в пределах от 0,1 до 3 нг/мл.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующий стандарт:

EN ISO 3696, Water for analytical laboratory use. Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний) (ISO 3696:1987)

3 Сущность метода

Пробы вина и пива разбавляют раствором, содержащим полиэтиленгликоль (ПЭГ) и двууглекислый натрий, фильтруют и очищают на иммуноаффинной колонке. Охратоксин А элюируют из колонки метанолом и количественно определяют в условиях обращенно-фазной высокоеффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием.

Примечание — Использование ПЭГ способствует более полному извлечению охратоксина А и уменьшению количества и интенсивности других хроматографических пиков.

4 Реактивы

4.1 Общие положения

Если не установлено иное, используют только реактивы признанной аналитической степени чистоты и воду, соответствующую первой степени чистоты согласно EN ISO 3696.

Можно использовать имеющиеся в продаже реактивы с характеристиками, аналогичными нижеуказанным.

4.2 Хлорид натрия.

4.3 Двууглекислый натрий.

4.4 Полиэтиленгликоль (со средней молекулярной массой, равной 8 000).

4.5 Метанол, который может быть использован для ВЭЖХ.

4.6 Ацетонитрил, который может быть использован для ВЭЖХ.

4.7 Вода, которая может быть использована для ВЭЖХ.

4.8 Ледяная уксусная кислота, $\varphi(\text{CH}_3\text{COOH}) \approx 99\%$.

4.9 Разбавитель

Растворяют 10 г полиэтиленгликоля (см. 4.4) и 50 г двууглекислого натрия (см. 4.3) в около 950 мл воды и доводят до 1 000 мл.

4.10 Промывной раствор

Растворяют 25 г хлорида натрия (см. 4.2) и 5 г двууглекислого натрия (см. 4.3) в около 950 мл воды и доводят до 1 000 мл водой.

4.11 Подвижная фаза для ВЭЖХ

Смешивают 990 мл воды (см. 4.7), 990 мл ацетонитрила (см. 4.6) и 20 мл ледяной уксусной кислоты (см. 4.8), фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазируют (например, с применением гелия).

4.12 Толуол.

4.13 Смесь растворителей (толуола и ледяной уксусной кислоты)

Смешивают 99 объемных частей толуола (см. 4.12) с 1 объемной частью ледяной уксусной кислоты (см. 4.8).

4.14 Исходный раствор охратоксина А

Растворяют 1 мг охратоксина А (в виде кристаллов) или содержимое 1 ампулы (если охратоксин А был получен в виде пленки) в смеси растворителей (см. 4.13), чтобы получить раствор, содержащий около 20–30 мкг/мл охратоксина А. Для определения точной концентрации измеряют оптическую плотность в диапазоне длин волн 300 и 370 нм с шагом 5 нм, используя кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см (см. 5.10) и смесь растворителей (см. 4.13) в качестве образца сравнения, и строят кривую поглощения. Измеряют оптическую плотность при длине волны максимума поглощения и рассчитывают массовую концентрацию охратоксина А ρ_{OTA} , мкг/мл, используя формулу (1):

$$\rho_{\text{OTA}} = \frac{A_{\max} \cdot M \cdot 100}{\varepsilon \cdot b}, \quad (1)$$

где A_{\max} — значение оптической плотности, измеренной при максимуме поглощения (в данном случае при 333 нм);

M — молярная масса охратоксина А, г/моль ($M = 403,8$ г/моль);

ε — молярный коэффициент поглощения охратоксина А в смеси растворителей (см. 4.13), $\text{м}^2/\text{моль}$ ($\varepsilon = 544 \text{ м}^2/\text{моль}$);

b — толщина поглощающего слоя кварцевой кюветы, см ($b = 1$ см).

Раствор стабилен при температуре хранения минус 18 °C в течение не менее 4 лет.