



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
ISO 14501—
2016

МОЛОКО И МОЛОКО СУХОЕ

Определение содержания афлатоксина М₁.
Очистка с помощью иммуноаффинной
хроматографии и определение с помощью
высокоэффективной жидкостной хроматографии

НИФСИТР ЦСМ при МЭ КР

**РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**

(ISO 14501:2007, IDT)
(IDF 171:2007, IDT)

Издание официальное

Зарегистрирован

№ 12235

26 апреля 2016 г.



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)

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации по результатам голосования (протокол от 20 апреля 2016 г. №87-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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 14501:2007|IDF 171:2007 Milk and milk powder — Determination of aflatoxin M₁ content — Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography (Молоко и сухое молоко. Определение содержания афлатоксина M₁. Очистка иммуноаффинной хроматографией и определение с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 5 «Молоко и молочные продукты» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO) и Международной молочной федерацией (IDF).

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Национальном фонде ТНПА.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

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.

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МОЛОКО И МОЛОКО СУХОЕ**Определение содержания афлатоксина M₁.****Очистка с помощью иммуоаффинной хроматографии
и определение с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии****Milk and milk powder. Determination of aflatoxin M₁ content.
Clean-up by immunoaffinity chromatography
and determination by high-performance liquid chromatography**

Дата введения —

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания афлатоксина M₁ в молоке и сухом молоке. Предел обнаружения составляет 0,08 мкг/кг для цельного сухого молока, т. е., 0,008 мкг/л для восстановленного молока.

Метод также применим для частично обезжиренного молока, обезжиренного молока, сухого частично обезжиренного молока и сухого обезжиренного молока.

Предостережение

1 Для метода, описанного в настоящем стандарте, требуется использование растворов афлатоксина M₁. Афлатоксины являются канцерогенами для человека. Особое внимание необходимо уделять отчетам Международного агентства по изучению рака [4], [5].

2 Анализы должны выполняться в помещении при затемненном свете. Стандартные растворы афлатоксина должны быть защищены от света, например, с помощью алюминиевой фольги.

3 Вся стеклянная посуда (пробирки, склянки, колбы, мензурки, шприцы, и др.), контактирующая с водными растворами афлатоксина, должна быть вымыта перед использованием раствором кислоты во избежание потери афлатоксина.

Новую стеклянную посуду, которая будет контактировать с водными растворами афлатоксина, следует замачивать перед использованием в растворе серной кислоты (2 моль/л) в течение нескольких часов, а затем тщательно промыть дистиллированной водой для удаления всех следов кислоты (контролируют, чтобы значение pH находилось в пределах от 6 до 8).

4 Необходимо проводить обеззараживание лабораторных отходов, таких как твердые вещества, растворы в органических растворителях, водные растворы и пролитые жидкости, а также стеклянной посуды, контактирующей с канцерогенными материалами. Подходящие процедуры обеззараживания разработаны и утверждены Международным агентством по изучению рака [4], [5].

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

2.1 **содержание афлатоксина M₁** (aflatoxin M₁ content): Массовая концентрация или массовая доля афлатоксина M₁, определенная методом, установленным в настоящем стандарте.

Примечание — Массовая концентрация афлатоксина M₁ выражается в микрограммах на литр, а массовая доля — в микрограммах на килограмм.

Издание официальное**3 Сущность метода**

Афлатоксин M₁ экстрагируют, пропуская пробу для испытания через иммуоаффинную колонку, которая содержит специфические антитела, связанные с твердым материалом субстрата.

Когда проба проходит через колонку, антитела селективно связываются с любым присутствующим афлатоксином M_1 (антигеном) и образуют комплекс антитело-антиген. Все другие компоненты основного состава пробы вымываются из колонки водой. Затем афлатоксин M_1 элюируют из колонки и элюат собирают. Количество афлатоксина M_1 , присутствующего в элюате, определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуориметрическим детектированием.

4 Реактивы

Применяют реактивы только установленной аналитической квалификации, если не оговорено договором иное, а также дистиллированную или деминерализованную воду эквивалентной чистоты.

4.1 Иммуноаффинная колонка

Иммуноаффинная колонка должна содержать антитела относительно афлатоксина M_1 . Максимальная емкость колонки должна быть не менее 100 нг афлатоксина M_1 (что соответствует 2 мкг/л, когда используют 50 мл пробы для испытания). Колонка должна давать выход афлатоксина M_1 не менее 80 %, при применении стандартного раствора, содержащего 4 нг токсина (что соответствует 80 нг/л, когда используют 50 мл пробы для испытания). Допускается использовать любую иммуноаффинную колонку, удовлетворяющую вышеуказанным рабочим характеристикам. Работа колонки должна проверяться регулярно и не менее одного раза для каждой партии колонок (см. 4.1.1 и 4.1.2).

4.1.1 Контроль емкости

Разбавляют водой 1,0 мл основного стандартного раствора афлатоксина M_1 (4.4.2) до 50 мл. Хорошо перемешивают и аккуратно наносят весь объем на иммуноаффинную колонку, соблюдая рекомендации по использованию колонок, предоставленные изготовителем. Моют колонку и элюируют токсин. Определяют количество афлатоксина M_1 , элюированного из колонки, методом ВЭЖХ после приготовления подходящего разбавления окончательного элюата.

Рассчитывают емкость для афлатоксина M_1 . Сравнивают результат с требованиями, указанными в 4.1.

4.1.2 Контроль выхода

С помощью пипетки (5.4) разбавляют водой 0,8 мл рабочего стандартного раствора афлатоксина M_1 концентрацией 0,005 мкг/мл (4.4.3) до 10 мл. Хорошо перемешивают и аккуратно наносят весь объем на иммуноаффинную колонку, соблюдая рекомендации по использованию колонок, предоставленные изготовителем. Моют колонку и элюируют токсин. Определяют количество афлатоксина M_1 , элюированного из колонки, методом ВЭЖХ после приготовления подходящего разбавления окончательного элюата.

Рассчитывают выход для афлатоксина M_1 . Сравнивают результат с требованиями, указанными в 4.1.

4.2 Ацетонитрил, степень чистоты для ВЭЖХ.

4.2.1 Раствор ацетонитрила, 25 %

Добавляют 250 мл ацетонитрила (4.2) к 750 мл воды и перемешивают. Можно использовать другие объемы в такой же пропорции. Раствор (элюент) перед использованием дегазируют.

4.2.2 Раствор ацетонитрила, 10 %

Добавляют 100 мл ацетонитрила (4.2) к 900 мл воды и перемешивают. Можно использовать другие объемы в такой же пропорции. Раствор (элюент) перед использованием дегазируют.

4.3 Азот газообразный.

4.4 Стандартные растворы афлатоксина M_1

4.4.1 Градуировочный стандартный раствор афлатоксина M_1

Готовят градуировочный стандартный раствор афлатоксина M_1 путем растворения в ацетонитриле (4.2) такого количества афлатоксина M_1 ($C_{17}H_{12}O_7$), которое позволяет получить раствор концентрации 10 мкг/мл. Определяют фактическую концентрацию афлатоксина M_1 путем измерения оптической плотности при длине волны максимума поглощения раствора.

Используют спектрофотометр (5.14) для измерения оптической плотности градуировочного стандартного раствора афлатоксина M_1 в диапазоне длин волн от 330 до 370 нм относительно ацетонитрила (4.2), применяемого в качестве образца сравнения. Измеряют оптическую плотность A при длине волны максимума поглощения λ_{max} , близкой к 350 нм.