МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
33601—
2015**

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Экспресс-метод определения афлатоксина M_1

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГБНУ «ВНИМИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 12 ноября 2015 г. № 82-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

(Поправка)

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 23 ноября 2015 г. № 1946-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33601—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ИЗДАНИЕ (ноябрь 2019 г.) с Поправкой (ИУС 7—2019)

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

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

© Стандартинформ, оформление, 2016, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Отбор проб и подготовка их к анализу 2
4 Условия проведения измерений 2
5 Определение афлатоксина M_1 с применением тест-набора «Aflasensor^{BT}» 2
6 Определение афлатоксина M_1 в сыром молоке с применением тест-набора «Тест IDEXX SNAP® Афлатоксин M_1» 4
7 Требования безопасности 5
Приложение А (справочное) Пример оценки результатов определения наличия афлатоксина M_1 с применением тест-набора «Aflasensor^{BT}» 6
Приложение Б (справочное) Компонентный состав теста «IDEXX SNAP® Афлатоксин M_1» 7

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Экспресс-метод определения афлатоксина M_1

Milk and milk products.
Express method for determination of the aflatoxin M_1 content

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на сырое, термически обработанное и предварительно восстановленное сухое коровье молоко (далее — молоко) и устанавливает иммунохроматографический метод определения наличия афлатоксина M_1.

Предел обнаружения афлатоксина M_1 в продукте составляет 0,00002 мг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

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

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

ГОСТ 3145 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

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

ГОСТ 27752 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 28498 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы определений

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 29245 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей

Издание официальное

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru) указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Отбор проб и подготовка их к анализу

Отбор проб и подготовка их к анализу — по ГОСТ 26809.1 и другим нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт.

В случае если определение не может быть проведено сразу после отбора проб, пробы хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С не более суток.

4 Условия проведения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны соблюдаться следующие условия:

- температура окружающего воздуха ..... (20 ± 5) °С;
- относительная влажность воздуха..... (65 ± 15) %;
- атмосферное давление ..... (96 ± 10) кПа;
- частота переменного тока ..... (50 ± 5) Гц;
- напряжение в сети..... (220 ± 10) В.

5 Определение афлатоксина M_1 с применением тест-набора «Aflasensor^{BT}»

Предел обнаружения афлатоксина M_1 в продукте составляет 0,00002 мг/кг.

5.1 Сущность метода

Метод основан на реакции комплексообразования афлатоксина M_1 со специфическими белковыми рецепторами, меченными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов методом хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционную и контрольную зоны.

5.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

5.2.1 Тест-набор[1)] для определения наличия афлатоксина M_1, включающий:

- микропробирки, содержащие специфические белковые рецепторы, меченные коллоидным золотом, позволяющие определять афлатоксин M_1;
- индикаторные полоски для проведения хроматографического анализа;
- дозатор вместимостью 0,2 $см^3$ со стерильными наконечниками;
- флаконы для приготовления контрольных растворов: сухая смесь, содержащая афлатоксин M_1 массовой долей 0,0001 мг/кг («Положительный стандарт»), и сухая смесь, не содержащая афлатоксин M_1 («Отрицательный стандарт»).

5.2.2 Термометр лабораторный жидкостной диапазоном измерения от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1,0 °С по ГОСТ 28498.

5.2.3 Часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

5.2.4 Термостат, обеспечивающий поддержание температуры (40 ± 1) °С.

5.2.5 Баня водяная термостатируемая, позволяющая поддерживать температуру от 0 °С до 100 °С с допустимой погрешностью ± 2 °С.

5.2.6 Пипетка 1—1—1—1 по ГОСТ 29227.

[1)] Тест-набор «Aflasensor^{BT}».

5.2.7 Стакан В-1—250 ТС по ГОСТ 25336.

5.2.8 Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

5.2.9 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

5.3 Подготовка к проведению измерений

5.3.1 Необходимое количество микропробирок со специфическими белковыми рецепторами тест-набора (5.2.1) выдерживают при температуре (20 ± 5) °С в течение 20 мин. После выдержки микропробирки со специфическими белковыми рецепторами тест-набора (5.2.1) помещают в термостат и термостатируют при температуре (40 ± 1) °С в течение 10 мин.

5.3.2 Восстановление контрольных растворов «Положительный стандарт» и «Отрицательный стандарт» проводят следующим образом. Во флаконы, содержащие смеси для приготовления контрольных растворов (5.2.1), с помощью пипетки вносят по 1 $см^3$ дистиллированной воды. Флаконы закрывают крышками и оставляют на 1,5 мин. Затем содержимое флаконов аккуратно перемешивают до образования однородного раствора. Восстановленные контрольные растворы «Положительный стандарт» и «Отрицательный стандарт» используют свежеприготовленными.

5.3.3 Подготовка проб

Непосредственно перед измерениями проводят дополнительную подготовку проб: в стакан вместимостью 250 $см^3$ помещают 100—150 $см^3$ продукта, подготовленного по разделу 3, пробу нагревают до температуры (35 ± 2) °С, постоянно перемешивая, и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

5.3.4 Восстановление сухого молока проводят по ГОСТ 29245, выдерживают время для набухания белка не менее 30 мин при комнатной температуре и далее пробу нагревают до температуры (35 ± 2) °С и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

5.4 Проведение измерений

5.4.1 Проводят два параллельных определения. В каждую микропробирку, подготовленную по 5.3.1, пипеткой с индивидуальным стерильным наконечником (5.2.1) вносят по 0,2 $см^3$ пробы продукта, подготовленной по 5.3.3 и 5.3.4. Содержимое микропробирок быстро перемешивают, используя пипетку, наполняя и сливая ее содержимое обратно не менее пяти раз для получения однородного раствора.

5.4.2 Микропробирки помещают в термостат и выдерживают при температуре (40 ± 1) °С в течение 3 мин. Затем в каждую микропробирку, не вынимая ее из термостата, помещают по одной индикаторной полоске (5.2.1). Микропробирки с индикаторными полосками выдерживают в термостате при температуре (40 ± 1) °С в течение 7 мин.

По истечении этого времени индикаторные полоски извлекают из микропробирок, помещают на лист фильтровальной бумаги, отделяют от нее пористый фильтр и считывают результат не позднее чем через 2 мин, так как при подсушивании индикаторных полосок интенсивность окрашивания увеличивается, что может привести к ошибочному результату.

5.4.3 Параллельно проводят контрольное испытание, используя контрольные растворы, подготовленные по 5.3.2, в соответствии с 5.4.1—5.4.2. При этом в одну микропробирку вносят 0,2 $см^3$ раствора «Положительный стандарт», в другую — 0,2 $см^3$ раствора «Отрицательный стандарт».

5.5 Обработка результатов

5.5.1 Обработку результатов проводят, сравнивая интенсивность окрашивания зоны определения афлатоксина M_1 в красный цвет с контрольной линией контрольной зоны, проявившихся на индикаторной полоске после проведения измерений (см. приложение А, рисунок А.1). Результат считывают непосредственно после последнего термостатирования, но не позднее чем через 2 мин. Зона определения афлатоксина M_1 на индикаторной полоске расположена под контрольной линией.

Зона в верхней части индикаторной полоски является контрольной. Если после проведения определения по 5.4.2 или 5.4.3 окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение афлатоксина M_1 в пробе повторяют с новым тест-набором, так как результат считается недействительным.

В случае если интенсивность окрашивания зоны определения афлатоксина M_1 более яркая, чем контрольная, проба считается отрицательной. Если интенсивность окрашивания зоны определения

афлатоксина M_1 совпадает или менее яркая, чем контрольная, либо окрашивание зоны определения отсутствует, то проба считается положительной, что свидетельствует о наличии афлатоксина M_1 в анализируемом продукте в количестве, равном или большем, чем предел обнаружения.

5.5.2 Для проверки достоверной работы тестов проводят контрольные испытания согласно инструкции, прилагаемой к тест-набору. Обработку результатов в контрольном испытании с применением контрольных растворов «Положительный стандарт» и «Отрицательный стандарт» проводят по 5.5.1.

6 Определение афлатоксина M_1 в сыром молоке с применением тест-набора «Тест IDEXX SNAP® Афлатоксин M_1»

Предел обнаружения афлатоксина M_1 в продукте составляет 0,0005 мг/кг.

6.1 Сущность метода

Принцип действия основан на конкурентном, двусторонне направленном проточном иммуноферментном анализе. Метод основан на реакции комплексообразования афлатоксина M_1 со специфическим реагентом и последующем визуальном оценивании изменения окраски тестовых пятен.

6.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

6.2.1 Тест-набор[1)] для определения наличия афлатоксина M_1, включающий (см. приложение Б):
- SNAP®-тест;
- пробирку пластиковую, содержащую гранулы конъюгата — лиофилизированного реагента;
- пипетку пластиковую для переноса образца вместимостью 0,450 $см^3$.

6.2.2 Термостат, обеспечивающий поддержание температуры (45 ± 5) °С.

6.2.3 Устройство считывающее «Ридер IDEXX SNAPshot™ DSR».

6.2.4 Набор контрольных SNAP-тестов для считывающего устройства «Ридер SNAPshot™ DSR».

6.2.5 Стандарт афлатоксина M_1 из Aspergillus flavus 5 мкг (кат. № А6428).

6.2.6 Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

6.2.7 Термометр лабораторный жидкостной диапазоном измерения от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1,0 °С по ГОСТ 28498.

6.2.8 Баня водяная термостатируемая.

6.2.9 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

6.3 Подготовка к проведению измерений

6.3.1 Перед проведением измерений тест-набор (6.2.1) выдерживают при температуре (20 ± 5) °С в течение 20 мин. При этом в пробирке из тест-набора (6.2.1) гранула конъюгата должна находиться на дне. Если гранула конъюгата располагается не на дне, то необходимо, аккуратно постукивая по пробирке, вернуть гранулу на дно пробирки.

6.3.2 Термостат нагревают до температуры (45 ± 5) °С.

6.3.3 Непосредственно перед проведением измерений образцы продукта тщательно перемешивают и устанавливают температуру образца (20 ± 2) °С.

6.4 Проведение измерений

6.4.1 Используя пластиковую пипетку из тест-набора (6.2.1), в каждую пробирку из тест-набора (6.2.1), подготовленную по 6.3.1, вносят по (0,450 ± 0,050) $см^3$ пробы молока, подготовленной по 6.3.3. Содержимое пробирок аккуратно перемешивают до растворения гранулы, используя пипетку, наполняя и сливая ее содержимое обратно пять раз.

6.4.2 Пробирки и тест из тест-набора (6.2.1) помещают в термостат и выдерживают при температуре (45 ± 5) °С в течение 2 мин.

6.4.3 Не вынимая тест из термостата, образец переливают в «Приемное окно» — специальную лунку на тесте и наблюдают за кружком активации.

[1)] Тест-набор «Тест IDEXX SNAP® Афлатоксин M_1».

6.4.4 Когда образец достигнет кружка активации (кружок активации начинает исчезать), тест необходимо активировать. Для этого нажимают на его край до щелчка и продолжают термостатировать при температуре (45 ± 5) °С в течение 7 мин.

6.4.5 Активировать тест из тест-набора (6.2.1) необходимо, когда кружок активации исчез наполовину. По истечении 7 мин и в течение последующих 30 с проводят считывание результатов анализа.

6.4.6 Параллельно проводят контрольное испытание, используя набор контрольных тестов (6.2.4), включая стандарт афлатоксина M_1 из Aspergillus flavus (6.2.5).

6.5 Обработка результатов

6.5.1 Считывание результатов проводят визуально либо при помощи считывающего устройства (6.2.3), способного численно определить степень затемнения тестовых пятен.

6.5.2 При визуальном считывании оценивают тестовое пятно. Если тестовое пятно светлее контрольного, то результат считается положительным. Если тестовое пятно, соответствующее образцу, темнее контрольного или такое же по цвету, то результат считается отрицательным.

6.5.3 При использовании считывающего устройства (6.2.3) по окончании термостатирования тест помещают в окно считывающего устройства.

Считывающее устройство (6.2.3) определяет степень затемнения тестовых пятен и отображает отношение значения степени затемнения тестового пятна, соответствующего контролю, к значению степени затемнения тестового пятна, соответствующего образцу (C/S).

6.5.4 Если значение отношения C/S больше 1,05, то содержание афлатоксина M_1 в анализируемой пробе продукта превышает значение ПДК, что соответствует содержанию афлатоксина M_1 более 0,0005 мг/кг.

6.6 Проверка чувствительности функционирования считывающего устройства

Проверку чувствительности функционирования считывающего устройства проводят в соответствии с инструкцией по использованию считывающего устройства, используя набор контрольных SNAP-тестов для считывающего устройства, поставляемых в комплекте со считывающим устройством.

Проверку чувствительности считывающего устройства рекомендуется проводить не реже одного раза в неделю.

7 Требования безопасности

При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

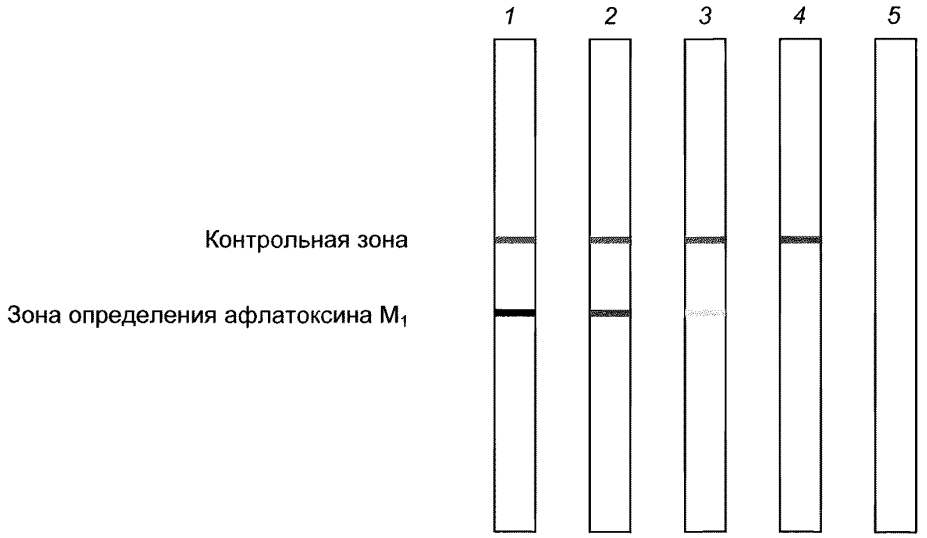
- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005;
- требования техники безопасности при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;
- требования техники безопасности при работе с электроустановками в соответствии с ГОСТ 12.1.019.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

Приложение А
(справочное)

Пример оценки результатов определения наличия афлатоксина M_1 с применением тест-набора «Aflasensor^{BT}»

А.1 Пример результатов определения наличия афлатоксина M_1 в анализируемом молоке с применением тест-набора «Aflasensor^{BT}» приведен на рисунке А.1.



1 — афлатоксин M_1 отсутствует; *2, 3, 4* — афлатоксин M_1 присутствует; *5* — недействительный результат

Рисунок А.1

Приложение Б
(справочное)

Компонентный состав теста «IDEXX SNAP® Афлатоксин M_1»



Рисунок Б.1

УДК 637.07:006.354 МКС 67.100.10

Ключевые слова: молоко и молочные продукты, иммунохроматографический метод, метод определения наличия афлатоксина M_1, индикаторные полоски, контрольные тесты, предел обнаружения

Редактор *А.Е. Минкина*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Г.В. Струковой*

Сдано в набор 20.11.2019. Подписано в печать 28.11.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,05.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru