МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ EN 13585–
2013

Продукты пищевые

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУМОНИЗИНОВ B_1 И B_2 В КУКУРУЗЕ

Метод ВЭЖХ с применением очистки экстракта методом твердофазной экстракции

(EN 13585:2001, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 – 92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» (ОАО «ВНИИС») при участии специалистов Государственного научного учреждения Всероссийского научно-исследовательского института консервной и овощесушильной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИКОП Россельхозакадемии) на основе собственного аутентичного перевода на русский язык европейского регионального стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 335)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 57-П от 27 июня 2013 г.)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен европейскому региональному стандарту EN 13585:2001 «Foodstuffs. Determination of fumonisins B_1 and B_2 in maize. HPLC method with solid phase extraction clean-up» (Продукты пищевые. Определение фумонизинов B_1 и B_2 в кукурузе. Метод ВЭЖХ с применением очистки экстракта методом твердофазной экстракции).

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр европейского регионального стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт,

имеется в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 31 октября 2013 г. № 1294-ст межгосударственный стандарт ГОСТ EN 13585-2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2013

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

Содержание

1 Область применения
2 Нормативные ссылки
3 Сущность метода
4 Реактивы и материалы
5 Аппаратура
6 Отбор проб
7 Подготовка проб
8 Процедура проведения испытания
9 Обработка результатов
10 Прецизионность
11 Протокол испытаний
Приложение А (справочное) Пример типичной хроматограммы
Приложение В (справочное) Данные по полноте обнаружения фумонизинов и относительному стандартному отклонению
Приложение С (справочное) Данные по прецизионности методики
Библиография

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

Продукты пищевые

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУМОНИЗИНОВ B_1 И B_2 В КУКУРУЗЕ

Метод ВЭЖХ с применением очистки экстракта методом твердофазной экстракции

Foodstuffs.
Determination of fumonisins B_1 and B_2 in maize.
HPLC method with solid phase extraction clean-up

Дата введения – 2015–07–01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения фумонизинов B_1 и B_2 в кукурузе с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Метод прошел валидацию путем межлабораторных испытаний, выполненных в соответствии с Руководством AOAC по процедуре проведения межлабораторных испытаний [1]. Объектом испытаний были пробы кукурузы с содержанием фумонизина B_1 в диапазоне от 405 до 6732 мкг/кг и фумонизина B_2 в диапазоне от 152 до 2619 мкг/кг. Метод пригоден для определения фумонизинов в зерне кукурузы или продуктах его первичной переработки (например, сырой, сушеной и молотой кукурузе), но не обеспечивает получение достоверных результатов при испытании большинства продуктов на основе кукурузы.

2 Нормативные ссылки

Приведенные ниже ссылочные нормативные документы являются обязательными для применения настоящего стандарта. Датированные ссылки предполагают возможность использования только указанного издания документа. В случае недатированных ссылок используют последнее издание документа, включая все дополнения.

EN ISO 3696 Water for analytical laboratory use – Specification and test

methods (ISO 3696: 1987) (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний).

3 Сущность метода

Фумонизины экстрагируют из пробы кукурузы смесью метанола и воды. Экстракт фильтруют и подвергают очистке методом твердофазной экстракции на патроне с сильным анионообменным сорбентом. Фумонизины элюируют смесью метанола с уксусной кислотой, элюат выпаривают, сухой остаток перерастворяют в смеси метанола с водой с добавлением ортофталевого диальдегида и 2-меркаптоэтанола для получения флуоресцирующих производных фумонизинов. Количественное определение фумонизинов проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с применением аналитической колонки с обращенно-фазовым сорбентом и флуориметрического детектирования.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – Фумонизины являются гепатотоксичными, нефротоксичными и канцерогенными веществами в отношении крыс и мышей. Их воздействие на человека окончательно не установлено. Следует соблюдать соответствующие меры предосторожности при обращении с фумонизинами. Любое лабораторное оборудование, контактировавшее с фумонизинами, следует промыть раствором гипохлорита натрия массовой долей 5 %.

4 Реактивы и материалы

4.1 Общие положения

Для проведения испытания при отсутствии особо оговоренных условий используют только реактивы гарантированной аналитической чистоты и дистиллированную воду или воду не ниже первой степени чистоты по EN ISO 3696. Используемые растворители по степени чистоты должны быть пригодны для применения в анализе с помощью ВЭЖХ.

4.2 Метанол.

4.3 Смесь водно-метанольная объемной долей метанола φ (CH_3OH) = 75 %

Смешивают 75 объемных частей метанола по 4.2 с 25 объемными частями воды.

4.4 Смесь водно-ацетонитрильная объемной долей ацетонитрила φ (CH_3CN) = 50 %

Смешивают 50 объемных частей ацетонитрила с 50 объемными частями воды.

4.5 Кислота ортофосфорная объемной долей φ (H_3PO_4) = 85 %.

4.6 Смесь метанола и уксусной кислоты объемной долей уксусной кислоты ρ (CH_3COOH) = 1 % для элюирования фумонизинов при твердофазной экстракции

Смешивают 99 объемных частей метанола по 4.2 с 1 объемной частью ледяной уксусной кислоты.

4.7 Ортофталевый диальдегид.

4.8 2-Меркаптоэтанол.

4.9 Натрий фосфорнокислый однозамещенный, раствор молярной концентрации *c* ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$) = 0,1 моль/дм^3

Раствор готовят растворением 15,6 г однозамещенного фосфата натрия ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$) в 1 дм^3 воды.

4.10 Натрий тетраборнокислый, раствор молярной концентрации *c* ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) = 0,1 моль/дм^3

Раствор готовят растворением 3,8 г тетрабората натрия ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) в 100 см^3 воды.

4.11 Натрия гидроксид, раствор молярной концентрации *c* (NaOH) = 0,1 моль/ дм^3

Раствор готовят растворением 0,4 г гидроксида натрия (NaOH) в 100 см^3 воды.

4.12 Подвижная фаза для ВЭЖХ

Смешивают 77 объемных частей метанола по 4.2 с 23 объемными ча-

стями раствора однозамещенного фосфорнокислого натрия по 4.9. Значение pH полученного раствора доводят до 3,35 ед. pH добавлением ортофосфорной кислоты по 4.5. Подвижную фазу фильтруют через мембранный фильтр по 5.7.

При необходимости проводят корректировку состава подвижной фазы применительно к свойствам аналитической колонки для ВЭЖХ.

4.13 Реактив для дериватизации фумонизинов

Растворяют 40 мг ортофталевого диальдегида по 4.7 в 1 $см^3$ метанола по 4.2. Добавляют 5 $см^3$ раствора тетраборнокислого натрия по 4.10 и 50 $мм^3$ 2-меркаптоэтанола по 4.8, полученный раствор перемешивают. Срок годности реактива для дериватизации – одна неделя при хранении при комнатной температуре в темном месте в укупоренном сосуде темного стекла.

4.14 Фумонизины B_1 и B_2, градуировочный раствор

Готовят основные растворы фумонизина B_1 и фумонизина B_2 по отдельности в водно-ацетонитрильной смеси по 4.4 массовой концентрации 250 мкг/$см^3$. Допускается использовать доступные для приобретения готовые растворы фумонизинов.

Порцию каждого основного раствора объемом 100 $мм^3$ переносят в стеклянный флакон, затем добавляют 300 $мм^3$ водно-ацетонитрильной смеси. Получают градуировочный раствор смеси фумонизинов B_1 и B_2 объемом 500 $мм^3$ массовой концентрации каждого фумонизина 50 мкг/$см^3$. Если предполагается проведение градуировки с помощью градуировочного графика, готовят несколько градуировочных растворов. Для этого порции каждого основного раствора различного объема (например, 20, 50, 100 и 200 $мм^3$) разбавляют водно-ацетонитрильной смесью до объема 500 $мм^3$.

Стандартные растворы фумонизинов хранят при температуре около 4 °С, при этом срок их годности составляет не менее 6 мес.

5 Аппаратура

При проведении испытания используют общеупотребительное лабора-

торное оборудование, в частности, перечисленное ниже.

5.1 Система для ВЭЖХ в указанной ниже комплектации:

5.1.1 Насос для подачи подвижной фазы изократический, пригодный для создания постоянной скорости потока 1 $см^3$/мин, оснащенный устройством ввода пробы (инжектором), обеспечивающим объем ввода 10 $мм^3$.

5.1.2 Колонка для ВЭЖХ аналитическая, заполненная обращенно-фазовым сорбентом, например, с привитыми октадецильными группами (ODS), обеспечивающая отделение пиков фумонизинов от сопутствующих пиков на уровне базовой линии, со следующими характеристиками:

материал корпуса – нержавеющая сталь;

длина колонки – 150 мм;

внутренний диаметр колонки – 4,6 мм;

диаметр частиц сорбента – 5 мкм;

защитная колонка, заполненная подходящим обращенно-фазовым сорбентом.

Допускается использовать колонки других размеров.

5.1.3 Детектор флуориметрический, позволяющий проводить измерения при длине волны возбуждения 335 нм и длине волны эмиссии 440 нм.

5.1.4 Компьютерная система обработки данных.

5.2 Блендер, гомогенизатор или миксер лабораторные.

5.3 Бумага фильтровальная.

5.4 Колонка для твердофазной экстракции, заполненная сильным анионообменным сорбентом, например, патрон SAX Bond-Elut[1], содержащий 500 мг сорбента, или аналогичный.

5.5 Устройство для твердофазной экстракции многопозиционное, (манифолд).

5.6 Устройство для выпаривания растворителей (испаритель), снабженное нагревателем, или аналогичное.

---

[1] Bond-Elut – пример подходящего изделия, доступного для приобретения. Данная информация приведена для удобства использования настоящего стандарта и не является рекламной поддержкой CEN данного изделия.

5.7 Фильтры мембранные для фильтрации водных растворов размером пор 0,45 мкм.

6 Отбор проб

Необходимо, чтобы проба, поступающая в лабораторию, была представительной и не была испорчена при транспортировании или хранении.

7 Подготовка проб

Пробу измельчают до частиц, проходящих через сито размером ячеек 1,0 мм. Измельченную пробу перемешивают до гомогенного состояния.

8 Процедура проведения испытания

8.1 Экстракция

50 г пробы для анализа помещают в подходящий стеклянный или пластиковый сосуд (например, пластиковую центрифужную пробирку вместимостью 250 $см^3$). В сосуд добавляют 100 $см^3$ водно-метанольной смеси по 4.3, после чего пробу для анализа диспергируют с помощью блендера по 5.2 при скорости вращения диспергирующего элемента около 10000 $мин^{-1}$. Время, необходимое для полного экстрагирования, зависит от типа используемого оборудования.

Диспергированную пробу центрифугируют в течение 10 мин при центробежном ускорении 500 *g*. Центрифугат фильтруют через бумажный фильтр по 5.3. Измеряют значение pH фильтрата, при необходимости его корректируют добавлением раствора гидроксида натрия по 4.11 до достижения значения в диапазоне от 5,8 до 6,5 ед. pH.

8.2 Очистка экстракта

Патрон для твердофазной экстракции по 5.4 устанавливают в манифолд по 5.5. Через патрон пропускают 5 $см^3$ метанола по 4.2, затем 5 $см^3$ водно-метанольной смеси по 4.3. Далее через патрон пропускают аликвоту экстрак-

та объемом 10 см^3 при скорости потока не более 2 см^3/мин, после чего патрон промывают сначала 8 см^3 водно-метанольной смеси по 4.3, затем 3 см^3 метанола по 4.2, не допуская при этом попадания воздуха в слой сорбента. Промывной элюат отбрасывают. Фумонизины элюируют 10 см^3 смеси метанола с уксусной кислотой по 4.6 при скорости потока не более 1 см^3/мин, элюат собирают в емкость подходящей вместимости.

Элюат переносят из емкости для сбора во флакон подходящей вместимости и выпаривают досуха в токе азота при температуре около 60 °С при помощи испарителя по 5.6. Емкость для сбора элюата ополаскивают 1 см^3 метанола по 4.2, смыв переносят во флакон для выпаривания, растворитель выпаривают досуха в токе азота, обеспечивая при этом полное удаление уксусной кислоты. По окончании выпаривания флакон укупоривают. До проведения хроматографического анализа сухой остаток хранят при температуре около 4 °С, при этом срок его годности составляет две недели.

8.3 Дериватизация и количественное определение

8.3.1 Дериватизация и хроматографический анализ градуировочных растворов

На дно пробирки небольшой вместимости помещают 25 мм^3 градуировочного раствора смеси фумонизинов B_1 и B_2 по 4.14 и 225 мм^3 реактива для дериватизации по 4.13. Содержимое пробирки интенсивно перемешивают, после чего полученный раствор анализируют с помощью ВЭЖХ с использованием аналитической колонки по 5.1.2 при объеме инжекции 10 мм^3, эквивалентном 0,050 мкг каждого фумонизина. При градуировке по нескольким градуировочным точкам для всех градуировочных растворов соблюдают равные промежутки времени с момента внесения реактива для дериватизации до момента хроматографического анализа, которые, однако, не должны превышать 3 мин. При градуировке по одной градуировочной точке устанавливают такую чувствительность флуориметрического детектора по 5.1.3, при которой высота пиков фумонизинов при анализе градуировочного раствора находится на уровне 80 % шкалы регистрирующего устройства.

8.3.2 Дериватизация и хроматографический анализ экстракта из кукурузы

Сухой остаток, полученный после очистки экстракта по 8.2, растворяют в 200 мм^3 метанола по 4.2. Для растворения сухого остатка также допускается использовать водно-ацетонитрильную смесь по 4.4. Аликвоту полученного раствора объемом 25 мм^3 помещают непосредственно на дно пробирки небольшой вместимости. В пробирку добавляют 225 мм^3 реактива для дериватизации по 4.13. Содержимое пробирки перемешивают, после чего полученный раствор анализируют с помощью ВЭЖХ с использованием аналитической колонки по 5.1.2 при объеме инжекции 10 мм^3. При этом для каждого раствора в серии растворов проб соблюдают равные промежутки времени с момента внесения реактива для дериватизации до момента хроматографического анализа, которые, однако, не должны превышать 3 мин.

Если величина пика фумонизина на хроматограмме раствора пробы превышает величину соответствующего пика на хроматограмме градуировочного раствора или верхнюю границу диапазона построения градуировочного графика по 4.14, проводят дериватизацию и хроматографический анализ нового раствора пробы, приготовленного путем дополнительного разбавления очищенного экстракта метанолом по 4.2.

Примечания

1 Необходимо соблюдать равные промежутки времени, не превышающие 3 мин, с момента внесения реактива для дериватизации по 4.13 до момента хроматографического анализа градуировочного раствора или раствора пробы, поскольку по истечении 4 мин интенсивность флуоресценции производных фумонизинов ослабевает с нарастающей скоростью.

2 Пределы обнаружения и количественного определения фумонизинов существенно варьируют в зависимости от чувствительности используемого детектора. Для большинства современных моделей детекторов достижимы пределы обнаружения фумонизинов B_1 и B_2 5 мкг/кг при отношении уровня аналитического сигнала к уровню шума, равном 3.

3 Типичная хроматограмма представлена в приложении А.

9 Обработка результатов

Массу каждого фумонизина m_n в инжектированной аликвоте раствора пробы, мкг, рассчитывают по формуле

$$m_{it} = m_{st} \frac{P_t}{P_s}, \quad (1)$$

где m_{st} – масса фумонизина в инжектированной аликвоте градуировочного раствора, мкг, рассчитанная, исходя из массовой концентрации градуировочного раствора (m_{st} = 0,05 мкг для каждого фумонизина);

P_t – величина пика фумонизина на хроматограмме раствора пробы, в единицах площади или высоты;

P_s – величина пика фумонизина на хроматограмме стандартного раствора, в единицах площади или высоты;

Содержание каждого фумонизина в пробе, w_t, мг/кг, рассчитывают по формуле

$$w_t = \frac{m_{it} \cdot V_t \cdot D}{W \cdot V_t}, \quad (2)$$

где V_t – объем раствора пробы для анализа после дериватизации, мм^3 (V_t = 250 мм^3);

D – коэффициент, учитывающий разбавление раствора пробы для анализа, если таковое имело место;

W – масса пробы для анализа, эквивалентная аликвоте экстракта, взятой для дериватизации (W = 0,625 г при объеме аликвоты экстракта, взятом для дериватизации, равном 25 мм^3);

V_t – объем инжекции раствора пробы для анализа, мм^3 (V_t = 10 мм^3).

При градуировке методом построения градуировочного графика расчеты производят соответствующим образом.

10 Презиционность

10.1 Общие положения

Подробности межлабораторных испытаний по определению прецизионности метода приведены в приложениях В и С. Значения метрологических

характеристик, полученные в результате межлабораторных испытаний, могут быть не применимы к другим содержаниям аналита и другим типам матриц, чем те, что указаны в данных приложениях.

10.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте испытаний в одной лаборатории одним оператором с использованием одного оборудования в течение короткого промежутка времени, не должно превышать предел повторяемости r более чем в 5 % случаев.

Предел повторяемости при определении фумонизина B_1 равен следующим значениям:

при $\bar{x} = 405$ мкг/кг $r = 80{,}6$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 813$ мкг/кг $r = 132{,}7$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 1621$ мкг/кг $r = 349{,}2$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 3245$ мкг/кг $r = 559{,}2$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 6732$ мкг/кг $r = 2062{,}5$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 4246$ мкг/кг $r = 1572{,}8$ мкг/кг (проба, загрязненная фумонизинами естественным путем).

Предел повторяемости при определении фумонизина B_2 равен следующим значениям:

при $\bar{x} = 152$ мкг/кг $r = 35{,}6$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 313$ мкг/кг $r = 74{,}5$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 618$ мкг/кг $r = 205{,}5$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 1294$ мкг/кг $r = 260{,}7$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 2619$ мкг/кг $r = 891{,}5$ мкг/кг;

при $\bar{x} = 1234$ мкг/кг $r = 603{,}1$ мкг/кг (проба, загрязненная фумонизинами естественным путем).

10.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте

испытаний в разных лабораториях разными операторами с использованием разного оборудования, не должно превышать предел воспроизводимости R более чем в 5 % случаев.

Предел воспроизводимости при определении фумонизина B_1 равен следующим значениям:

при $\bar{x}$ = 405 мкг/кг R= 157,4 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 813 мкг/кг R = 356,7 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 1621 мкг/кг R = 731,1 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 3245 мкг/кг R = 1383,5 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 6732 мкг/кг R= 3079,2 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 4246 мкг/кг R = 2643,5 мкг/кг (проба, загрязненная фумонизинами естественным путем).

Предел воспроизводимости при определении фумонизина B_2 равен следующим значениям:

при $\bar{x}$ = 152 мкг/кг R = 69,2 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 313 мкг/кг R = 138,3 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 618 мкг/кг R = 335,2 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 1294 мкг/кг R = 622,4 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 2619 мкг/кг R= 1309,6 мкг/кг;

при $\bar{x}$ = 1234 мкг/кг R = 922,3 мкг/кг (проба, загрязненная фумонизинами естественным путем).

11 Протокол испытаний

Протокол результатов испытаний должен содержать следующие сведения:

- всю информацию, необходимую для идентификации пробы (вид пробы, ее происхождение и назначение);
- ссылку на настоящий стандарт;
- дату и способ отбора пробы (если известны);
- дату поступления пробы в лабораторию;
- дату проведения испытания;

- результаты испытания с указанием единиц измерения;

- все особенности, наблюдавшиеся при проведении испытания;

- все операции, не оговоренные в методе или рассматриваемые как необязательные, которые могли повлиять на результат испытания.

Приложение А
(справочное)

Пример типичной хроматограммы

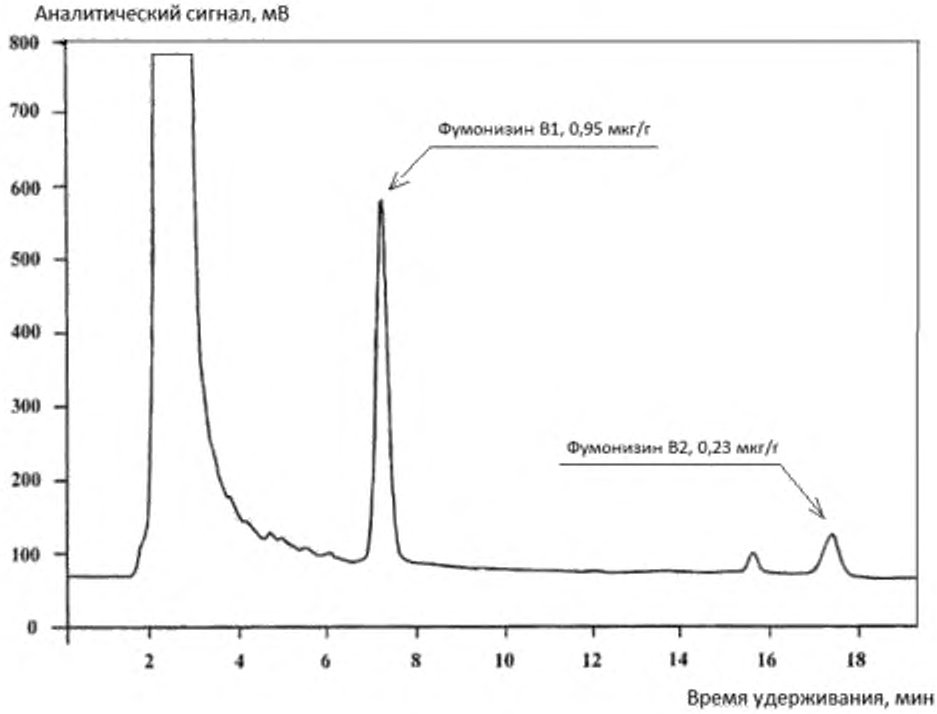

Рисунок А.1

Условия хроматографического анализа:

способ дериватизации – смешивание экстракта объемом 25 мм^3 с дериватизирующим реагентом объемом 225 мм^3;

объем инжекции – 20 мм^3;

подвижная фаза – смесь метанола с фосфатным буферным раствором (pH 3,35) в объемном соотношении 77 : 23;

аналитическая колонка для ВЭЖХ – длина 150 мм, внутренний диаметр 4,6 мм, заполненная сорбентом Discovery® C18;

скорость потока – 1 см^3/мин;

условия флуориметрического детектирования: длина волны возбуждения 335 нм, длина волны эмиссии 440 нм.

Приложение В
(справочное)

Данные по полноте обнаружения фумонизинов и относительному стандартному отклонению

В таблице В.1 приведены данные по полноте обнаружения фумонизинов B_1 и B_2 методом ВЭЖХ при различных уровнях искусственного внесения фумонизинов в пробы кукурузы. Данные получены в результате межлабораторных испытаний, организованных ИЮПАК/АОАС с участием 12 лабораторий, и рассчитаны по результатам, представленным 9 лабораториями. Настоящий метод использован при проведении межлабораторных испытаний в рамках ИЮПАК/АОАС для определения фумонизинов B_1, B_2 и B_3 в кукурузе [2] и адаптирован АОАС в качестве официального метода [3].

Таблица В.1– Данные по прецизионности метода для кукурузной муки

Внесено фумонизина, мкг/кг	Среднее значение полноты обнаружения, %	Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %
Фумонизин B_1			
500	81,1	7,1	13,9
1000	81,3	5,8	15,7
2000	81,1	7,7	16,1
4000	81,1	6,2	15,2
8000	84,2	10,9	16,3
4246*	–	13,2	22,2
Фумонизин B_2			
200	75,9	8,4	16,3
400	78,3	8,5	15.8
800	77,3	11,9	19,3
1600	80,9	7,2	17.2
3200	81,9	12,2	17,9
1234**	–	17,5	26,7

* Кукуруза, загрязненная фумонизином B_1 естественным путем (среднее значение содержания 4246 мкг/кг).

** Кукуруза, загрязненная фумонизином B_2 естественным путем (среднее значение содержания 1234 мкг/кг).

Приложение С
(справочное)

Данные по прецизионности метода

Приведенные ниже данные получены в результате межлабораторных испытаний, организованных в соответствии с Руководством АОАС по проведению межлабораторных испытаний [1] под руководством ИЮПАК/АОАС [2].

Таблица С.1 – Данные по прецизионности метода

Наименование показателя	Фумонизин B_1	Фумонизин B_2
Год проведения испытаний	1994	1994
Количество лабораторий-участников	9*	9*
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	8	8
Количество выбросов (лабораторий)	1	1
Число принятых результатов	16	16
Среднее значение $\bar{x}$, мкг/кг	405	152
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	28,8	12,7
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	7,1	8,4
Предел повторяемости r (r = 2,8 s_r), мкг/кг	80,6	35,6
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	56,2	24,7
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	13,9	16,3
Предел воспроизводимости R (R= 2,8 s_R), мкг/кг	157,4	69,2
Полнота обнаружения, %	81,1	75,9

* Три лаборатории из первоначальных 12 лабораторий – участников были исключены по причине недееспособности.

Таблица С.2 – Данные по прецизионности метода

Наименование показателя	Фумонизин B_1	Фумонизин B_2
Год проведения испытаний	1994	1994
Количество лабораторий-участников	9*	9*
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	9
Количество выбросов (лабораторий)	-	-
Число принятых результатов	18	18
Среднее значение x, мкг/кг	813	313
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	47,4	26,6
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	5,8	8,5
Предел повторяемости r (r = 2,8 s_r), мкг/кг	132,7	74,5
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	127,4	49,4
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_r, %	15,7	15,8
Предел воспроизводимости R (R= 2,8 s_R), мкг/кг	356,7	138,3
Полнота обнаружения, %	81,3	78,3
* Три лаборатории из первоначальных 12 лабораторий – участников были исключены по причине недееспособности.		

Таблица С.3 – Данные по прецизионности метода

Наименование показателя	Фумонизин B_1	Фумонизин B_2
Год проведения испытаний	1994	1994
Количество лабораторий-участников	9*	9*
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	9
Количество выбросов (лабораторий)	–	–
Число принятых результатов	18	18
Среднее значение x, мкг/кг	1621	618
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	124,7	73,4
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	7,7	11,9
Предел повторяемости r (r = 2,8 s_r), мкг/кг	349,2	205.5
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	261,1	119,7
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_r, %	16,1	19,3
Предел воспроизводимости R (R= 2,8 s_R), мкг/кг	731,1	335,2
Полнота обнаружения, %	81,1	77,3

* Три лаборатории из первоначальных 12 лабораторий – участников были исключены по причине недееспособности.

Таблица С.4 – Данные по прецизионности метода

Наименование показателя	Фумонизин B_1	Фумонизин B_2
Год проведения испытаний	1994	1994
Количество лабораторий-участников	9*	9*
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	9
Количество выбросов (лабораторий)	-	-
Число принятых результатов	18	18
Среднее значение $\bar{x}$, мкг/кг	3245	1294
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	199,7	93,1
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	6,2	7,2
Предел повторяемости r (r = 2,8 s_r), мкг/кг	559,2	260,7
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	494,1	222,3
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_r, %	15,2	17,2
Предел воспроизводимости R (R= 2,8 s_R), мкг/кг	1383,5	622,4
Полнота обнаружения, %	81,1	80,9
* Три лаборатории из первоначальных 12 лабораторий – участников были исключены по причине недееспособности.		

Таблица С.5 – Данные по прецизионности метода

Наименование показателя	Фумонизин B_1	Фумонизин B_2
Год проведения испытаний	1994	1994
Количество лабораторий-участников	9*	9*
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	9
Количество выбросов (лабораторий)	–	–
Число принятых результатов	18	18
Среднее значение $\bar{x}$, мкг/кг	6732	2619
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	736,6	318,4
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	10,9	12,2
Предел повторяемости r (r = 2,8 s_r), мкг/кг	2062,5	891,5
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	1099,7	467,7
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_r, %	16,3	17,9
Предел воспроизводимости R (R= 2,8 s_R), мкг/кг	379,2	1309,6
Полнота обнаружения, %	84,2	81,9
* Три лаборатории из первоначальных 12 лабораторий – участников были исключены по причине недееспособности.		

Таблица С.6 – Данные по прецизионности метода

Наименование показателя	Фумонизин B_1	Фумонизин B_2
Год проведения испытаний	1994	1994
Количество лабораторий-участников	9*	9*
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	9
Количество выбросов (лабораторий)	–	–
Число принятых результатов	18	18
Среднее значение $\bar{x}$, мкг/кг	4296	1234
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	561,7	215,4
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	13,2	17,5
Предел повторяемости r (r = 2,8 s_r), мкг/кг	1572,8	603,1
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	944,1	329,4
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_r, %	22,2	26,7
Предел воспроизводимости R (R= 2,8 s_R), мкг/кг	2643,5	922,3
Полнота обнаружения, %	–**	–**

* Три лаборатории из первоначальных 12 лабораторий – участников были исключены по причине недееспособности.

** Кукуруза, загрязненная фумонизинами естественным путем

Библиография

[1] AOAC Official methods Program 1995, Associate referee's Manual on development, Study, Review and Approval Process, Part IV AOAC Guidelines for Collaborative Studies, p. 23 – 51

[2] E.W. Syderham, G.S. Shepard, P.G. Thiel, S. Stockenstrom, P.W. Snijman, D.J. Van Schakkwyk, Liquid Chromatographic Determination of Fumonisins B1, B2 and B3 in corn. AOAC-IUPAC Collaborative Study. Journal of ASOAC International. 1996, Vol. 79, No 3, pp. 688-696

[3] AOAC International Official Methods of Analysis, 17th Ed., 2000, Volume II, method 49.5.01 (995.15)

УДК 633.15:543.6:006.354 МКС 67.050 IDT
67.060

Ключевые слова: продукты пищевые, кукуруза, определение фумонизинов B_1 и B_2, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, очистка экстракта методом твердофазной экстракции, флуориметрическое детектирование

gost.e-ecolog.ru