МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 15141-2— 2013

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания охратоксина А в зерне и зерновых продуктах

Часть 2

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с очисткой бикарбонатом

(ISO 15141-2:1998, IDT)

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 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» и Техническим комитетом по стандартизации Республики Казахстан ТК 71 «Экологическая безопасность сырья, материалов, веществ и сооружений» на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации по переписке (протокол от 5 ноября 2013 г. № 61-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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 25 августа 2016 г. № 943-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 15141-2—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 15141-2:1998 «Продукты пищевые. Определение содержания охратоксина А в зерне и зерновых продуктах. Часть 2. Метод жидкостной хроматографии высокого разрешения с очисткой бикарбонатом» («Foodstuffs — Determination of ochratoxin A in cereals and cereal products — Part 2. High performance liquid chromatographic method with bicarbonate clean up», IDT).

Международный стандарт ISO 15141-2:1998 подготовлен Европейским комитетом по стандартизации (CEN) в сотрудничестве с Техническим комитетом ISO TC 34 «Сельскохозяйственные пищевые продукты», Подкомитетом SC ПК 4 «Зерновые и бобовые» в соответствии с Соглашением по техническому сотрудничеству между ISO и CEN (Венское Соглашение).

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

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2019 г.

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»

© ISO, 1998 — Все права сохраняются
© 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 Сущность метода 1
4 Реактивы 2
5 Средства измерений и оборудование 3
6 Проведение испытания 3
7 Обработка результатов испытаний 5
8 Прецизионность 5
9 Протокол испытаний 6
Приложение А (справочное) Данные по прецизионности 7
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам 9
Библиография 10

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

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания охратоксина А в зерне и зерновых продуктах

Часть 2

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с очисткой бикарбонатом

Foodstuffs. Determination of ochratoxin A in cereals and cereal products.
Part 2. High performance liquid chromatographic method with bicarbonate clean up

Дата введения — 2017—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения охратоксина А (ОТА) и распространяется на зерно и зерновые продукты. Нижний предел количественного определения составляет 3 мкг/кг.

Метод успешно валидирован при проведении межлабораторных сравнительных испытаниях по [1] на цельном ячмене, содержащем 2,9; 3,0; 7,4; 14,4 мкг/кг охратоксина А, на цельной кукурузе, содержащей 8,2 мкг/кг и 16,3 мкг/кг охратоксина А, а также на пшеничных отрубях, содержащих 3,8 мкг/кг и 4,5 мкг/кг охратоксина А.

Настоящий метод не распространяется на определение охратоксина А во ржи.

Примечание — Данный метод также применим к пшеничной муке.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на межгосударственные стандарты, которые являются обязательными. Для датированных ссылок применяют только указанное издание. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения).

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

Охратоксин А экстрагируют из зерна смесью хлороформа и водного раствора фосфорной кислоты и выделяют разделением жидких фаз. Выделенный водный бикарбонатный раствор переносят в патрон для твердофазной экстракции C_{18} и элюируют охратоксин А смесью этилацетат—метанол—уксусная кислота. Охратоксин А отделяют методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее — ВЭЖХ) и количественно определяют хроматографией с флуоресцентным детектором. Хроматография производного метилового эфира подтверждает идентификацию охратоксина А [2]—[5].

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Охратоксин А вызывает повреждение почек и печени и является канцерогеном. Соблюдают соответствующие меры предосторожности [6] при работе с такими соединениями и, в частности, избегают работы в сухом виде, т. к. вследствие электростатических свойств это может привести к рассеиванию и вдыханию. Стеклянная посуда должна быть очищена 4 %-ным раствором гипохлорита натрия. Следует обратить внимание на положение, сделанное Международным агентством по изучению рака [7], [8].

Издание официальное

4 Реактивы

При проведении испытаний используют только реактивы общепризнанного аналитического класса, дистиллированную воду или воду не ниже первой степени чистоты по EN ISO 3696. Растворитель должен иметь степень чистоты, необходимую для проведения анализа методом ВЭЖХ.

4.1 Хлороформ, стабилизированный 2-метил-2-бутеном или этанолом.

4.2 Фосфорная кислота, $c(H_3PO_4)$ = 0,1 моль/дм^3.

4.3 Диатомовая земля

900 г диатомовой земли, обработанной кислотой, на всю ночь помещают в метанол (см. 4.7). Фильтруют через двойной слой бумаги в воронку Бюхнера (см. 5.6), промывают 8 дм^3 воды и сушат в течение 12 ч при температуре 150 °С.

4.4 Раствор бикарбоната натрия, c ($NaHCO_3$) = 30 г/дм^3.

4.5 Этилацетат

4.6 Толуол

4.7 Метанол

4.8 Ледяная уксусная кислота, (CH_3COOH) = 98 %

4.9 Ацетонитрил

4.10 Дихлорметан

4.11 Раствор для элюирования: смешивают в объемном отношении 95:5:0,5 этилацетат (см. 4.5), метанол (см. 4.7) и ледяную уксусную кислоту (см. 4.8).

4.12 Подвижная фаза: смешивают ацетонитрил (см. 4.9), воду и ледяную уксусную кислоту (см. 4.8) в объемном соотношении 99:99:2 и дегазируют.

4.13 Смесь растворителей: смешивают толуол (см. 4.6) и ледяную уксусную кислоту (см. 4.8) в объемном соотношении 99:1.

4.14 Трифторид бора

4.15 Трифторид бора, раствор в метаноле, c (BF_3) = 14 г/см^3

Примечание — Испытания проводят в вытяжном шкафу, избегая контакта с кожей, глазами и дыхательными путями.

4.16 Охратоксин А, кристаллический и в жидком виде

4.17 Охратоксин А, основной раствор

Растворяют 1 мг охратоксина А (кристаллы) (см. 4.16) или содержимое 1 ампулы (в жидком виде) в смеси растворителей (см. 4.13) для получения раствора, содержащего от 20 до 30 мкг/см^3 охратоксина А.

Для определения точной концентрации регистрируют спектр поглощения между длиной волны 300 нм и 370 нм с шагом в 5 нм в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 см (см. 5.4) относительно смеси растворителей. Определяют длину волны в максимуме поглощения, регистрируя спектр вблизи него с шагом в 1 нм.

Массовую концентрацию охратоксина А, ρ_{OTA}, в мг/см^3 вычисляют по формуле

$$\rho_{OTA} = A_{max} \cdot \frac{M \cdot 100}{k \cdot \delta}, \quad (1)$$

где A_{max} — оптическая плотность в максимуме поглощения (при 333 нм);

M — относительная молекулярная масса охратоксина А (M = 403 г/моль);

k — относительный молярный коэффициент поглощения охратоксина А в смеси растворителей (544 м^2/моль);

δ — толщина поглощающего слоя кварцевой кюветы, см.

4.18 Стандартный раствор охратоксина А

Разбавляют основной раствор (см. 4.17) смесью растворителя (см. 4.13) до получения стандартного раствора с массовой концентрацией охратоксина А 4 мкг/см^3.

Этот раствор может храниться в холодильнике при 4 °С. Его устойчивость должна проверяться.

4.19 Градуировочные растворы охратоксина А

Дозируют 5; 10; 25; 50; 100 мкл аликвоты стандартного раствора (см. 4.18) в разные пробирки емкостью от 4 до 5 см^3 (см. 5.16) с помощью шприцов с фиксированным объемом (см. 5.16). Выпаривают досуха под током азота. Добавляют 1,0 см^3 подвижной фазы (см. 4.12) в каждую пробирку для получения массовых концентраций охратоксина А, составляющих 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 нг/25 мкл.

4.20 Раствор гипохлорита натрия, c (NaOCl) = 4 г/100 см^3.

5 Средства измерений и оборудование

Применяют следующее лабораторное оборудование:

5.1 Мельница лабораторная и сито с размером ячеек 1 мм.

5.2 Блендер высокоскоростной с сосудом вместимостью 1250 $см^3$ с крышкой.

5.3 Спектрометр, для проведения измерений в области длин волн в диапазоне от 300 до 370 нм, имеющий ширину спектральной полосы не более ± 2 нм.

5.4 Кюветы кварцевые, с толщиной поглощающего слоя 1 см и незначительной поглощающей способностью в диапазоне длин волн от 300 до 370 нм.

5.5 Фильтры из стеклянного волокна, толщиной 0,3 мм, с размером пор 1,5 мкм, диаметром 9,0 см (или его эквивалентом).

5.6 Воронки Бюхнера: соответствующих диаметров, например 9 см и 25 см.

5.7 Бумага гофрированная фильтровальная.

5.8 Воронки делительные вместимостью 25 $см^3$и 100 $см^3$.

5.9 Центрифуга с пробирками или колбами вместимостью 100 $см^3$.

5.10 Патрон для твердофазной экстракции одноразовый, представляющий собой полипропиленовую трубку вместимостью 3 $см^3$, содержащий 500 мг силикагеля C_{18} с размером частиц 40 мкм.

5.11 Устройство для вакуумной фильтрации многопозиционное, приспособленное для установки патронов для твердофазной экстракции. Может быть заменен шприцом (5—10) $см^3$ с подходящим адаптером (типа Луер).

5.12 Пробирки вместимостью 10 $см^3$ с крышками, политетрафторэтиленовым (PTFE) покрытием и резьбой

5.13 Фильтр мембранный с размером пор 0,45 мкм.

5.14 Оборудование ВЭЖХ, состоящее из следующего:

5.14.1 Хроматограф жидкостный высокоэффективный (резервуар для элюента, насос с регулируемым потоком от 0,5 до 5 $см^3$/мин, инжектор проб, петли объемом 25 мкл флуоресцентного детектора) совместимый с записывающим устройством или интегратором.

5.14.2 Аналитическая колонка обратной фазы ВЭЖХ, например от Supelco[1)].

- длина .....250 мм;
- внутренний диаметр.....4,6 мм;
- уплотнение — сферический материал C_{18} (5 мкм) или его эквивалент.

Примечание — Также могут использоваться более короткие колонки (например, колонка длиной от 120 до 150 мм).

5.15 Виалы вместимостью 5 $см^3$, с крышками с политетрафторэтиленовым (PTFE) покрытием и резьбой или другая герметичная емкость.

5.16 Шприц с фиксированным объемом.

6 Проведение испытания

6.1 Общие положения

Испытание проводят в течение одного рабочего дня. Если несколько образцов подвергаются последовательному испытанию в одно и то же время, все они должны анализироваться в течение следующей ночи с помощью автосемплера.

6.2 Подготовка образца

Образец измельчают с помощью лабораторной мельницы или миксера, до тех пор, пока он не будет проходить через сито (см. 5.1) и тщательно перемешивают.

6.3 Экстракция охратоксина А из образца

Взвешивают навеску (50 ± 0,1) г, подготовленную по 6.2, помещают в сосуд блендера (см. 5.2) и добавляют сначала 250 $см^3$ хлороформа (см. 4.1), а затем 25 $см^3$ фосфорной кислоты (см. 4.2).

Смешивают в течение 3 мин при средней скорости. В конце смешивания добавляют 10 г (45 $см^3$) диатомовой земли (см. 4.3). Фильтруют экстракт через фильтр из стеклянного волокна (см. 5.5), покрытый диатомовой землей слоем 9 см, в воронке Бюхнера (см. 5.6) или через гофрированную бумагу (см. 5.7). Отбирают 50 $см^3$ фильтрата.

[1)] Supelco является примером коммерчески доступного продукта. Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является поддержкой этого продукта.

6.4 Разделение

Переносят 50 см^3 фильтрата в делительную воронку вместимостью 100 см^3 (см. 5.8). Добавляют 10 см^3 раствора бикарбоната натрия (см. 4.4) и осторожно взбалтывают. Дают фазам разделиться. Если образуется эмульсия, центрифугируют в течение 2 мин при 2000 об/мин. Отбирают верхнюю водную фазу для твердофазной экстракции.

6.5 Подготовка патрона

Подсоединяют патрон C_{18} (см. 5.11) к отверстиям вакуумного коллектора (см. 5.12) с коническими колбами или химическими стаканами на 25 см^3 внутри вакуумного коллектора для сбора растворителей для обработки и промывки. Промывают каждый патрон дважды метанолом порциями по 2 см^3 (см. 4.7), 2 см^3 воды и 2 см^3 раствора бикарбоната натрия (см. 4.4).

Примечание — В процессе работы не допускается высушивание колонки.

Для ускорения элюирования применяют слабое разрежение. Эта процедура также может осуществляться вручную путем применения давления от шприца (5—10) см^3, прикрепленного наверху патрона. Оставляют приблизительно 2 мм растворителя сверху фритты.

6.6 Экстракция колонкой

Пипеткой отбирают 5 см^3 бикарбонатный экстракт (см. 6.4) в колонку C_{18}.

Примечание — В процессе работы не допускается высушивание колонки.

Промывают 2 см^3 раствора фосфорной кислоты (см. 4.2), а затем 2 см^3 воды. Удаляют промывные жидкости.

Элюируют охратоксин А 8 см^3 раствора для элюирования (см. 4.11). Элюат собирают в пробирку емкостью 10 см^3 (см. 5.13), в которой содержится 2 см^3 воды.

Перемешивают элюат стеклянной палочкой для смешивания двух фаз. Пипеткой отбирают экстракт охратоксина А (верхнюю фазу) в другую пробирку емкостью 10 см^3 с крышкой и резьбой (см. 5.13). Дважды промывают оставшуюся фазу из первой пробирки 1 см^3 этилацетата (см. 4.5) и добавляют к фазе охратоксина А во второй пробирке. Выпаривают досуха под током азота.

Сухой остаток сразу же растворяют в 500 мкл (V_T) подвижной фазы (см. 4.12) и фильтруют через микрофильтр с порами 0,45 мкм (см. 5.14) в пробирку емкостью 5 см^3 с крышкой и резьбой (исследуемый раствор образца).

Сохраняют оставшийся исследуемый раствор образца для подтверждения идентификации охратоксина А путем образования метилового эфира (см. 6.11).

6.7 Условия ВЭЖХ анализа

Если использовались колонка в соответствии с 5.15.2 и подвижная фаза в соответствии с 4.12, то рекомендуемыми являются нижеследующие параметры:

- скорость потока подвижной фазы ..... 1 см^3/мин;
- длина волны возбуждения флуоресценции ..... 333 нм;
- длина волны эмиссии ..... 460 нм;
- отрезающий фильтр ..... 420 нм;
- объем дозирования (V_i) ..... от 20 до 25 мкл

(использование не менее 50 мкл для заполнения 25 мкл петли).

6.8 Градуировочная кривая

Градуировочную кривую строят при первоначальном определении и при изменении хроматографических условий.

Вводят не менее четырех градуировочных растворов различных концентраций (см. 4.19).

Строят график зависимости флуоресценции градуировочных растворов от массы охратоксина А, выраженной в нг/мкл.

Прослеживают, чтобы проводился тест на линейность [9].

6.9 Идентификация

Определяют охратоксин А путем сравнения времени удерживания образца с временем удерживания стандартного вещества.

Иногда может потребоваться определение пика охратоксина А введением исследуемого раствора и стандартного образца одновременно.

6.10 Определение

Незамедлительно проводят хроматографию образца. Для выполнения определения посредством метода внешнего стандарта определяют площадь пика или высоту пика, и сравнивают результаты с соответствующими значениями стандартного вещества с ближайшей площадью/высотой пика или используют градуировочную кривую. В случае градуировочной кривой для нее готовят дополнительные растворы с концентрациями в диапазоне линейной зависимости.

Вводят равные объемы исследуемого раствора и стандартного раствора, используемые для построения градуировочной кривой.

Находят массу охратоксина А, в нанограммах, соответствующую флуоресценции исследуемого раствора на градуировочной кривой.

Если охратоксин А, содержащийся в образце, находится вне градуировочной кривой, изменяют количество введенного образца, путем концентрирования или разбавления исследуемого раствора.

6.11 Подтверждение

При необходимости подтверждают идентификацию охратоксина А с помощью хроматографии производного метилового эфира (примерно на 15 мин больше).

Количественно переносят оставшийся исследуемый раствор (см. 6.6) в делительную воронку емкостью 25 см^3 (см. 5.8), споласкивают виалу 3 раза 1 см^3 дихлорметана (см. 4.10). Встряхивают и дают слоям разделиться. Отбирают нижний слой в виалу (см. 5.16) и выпаривают досуха.

Переносят 0,1 см^3 стандартного раствора охратоксина А (см. 4.18) в другую пробирку (см. 5.16) и выпаривают досуха.

Добавляют 0,5 см^3 раствора трифторида бора в метаноле (см. 4.15) в каждую виалу, закрывают крышкой и нагревают в течение 15 мин на водяной бане с температурой (50—60) °С. Выпаривают досуха на водяной бане под током азота.

Если присутствует вода, добавляют 1 см^3 ацетонитрила (см. 4.9) и продолжают выпаривание досуха. Охлаждают и разбавляют подвижной фазой (см. 4.12) до такого же объема, который использовался для анализа методом ВЭЖХ исследуемого раствора (см. 6.7.3), и подвергают этот раствор хроматографическому разделению в условиях, как описано в 6.7.

Полноту дериватизации проверяют по хроматограммам.

7 Обработка результатов испытаний

Массовую долю охратоксина А, w_{OTA}, мкг/кг, вычисляют по формуле

$$w_{OTA} = \frac{R_S \cdot V_T}{R_A \cdot V_I \cdot m}, \qquad (2)$$

где R_S — отклик введенного исследуемого раствора, измеренного как площадь пика или высота пика;

V_T — конечный объем раствора исследуемого образца (здесь 0,5 см^3);

R_A — вычисленный средний нормализованный отклик (отклик для 1 нг охратоксина А) пяти разных градуировочных растворов (см. 4.19);

V_I — объем введенного анализируемого образца (здесь: 0,025 см^3).

m — масса анализируемого образца в конечном экстракте, в данном случае:

$$50 \text{ г} \cdot 50 \text{ см}^3 \cdot 5 \text{ см}^3/250 \text{ см}^3 \cdot 10 \text{ см}^3 = 5 \text{ г}.$$

Результат округляют до двух десятичных знаков после запятой и записывают в протоколе испытания.

Указывают, применялась ли поправка на выход (извлечение).

8 Прецизионность

8.1 Общие положения

Сведения по межлабораторным испытаниям прецизионности метода в соответствии с [1] обобщены в приложении А. Значения, полученные при межлабораторном испытании, могут быть не применимыми к диапазонам концентрации аналита и матрицам, отличным от тех, которые указаны в приложении А.

8.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между двумя отдельными результатами испытаний, полученными на идентичном образце, одним оператором, с помощью одного и того же оборудования, в течение максимального короткого промежутка времени, будет превышать предел повторяемости *r* не более чем в 5 % случаев, приведенных в таблице 1.

Таблица 1

Образец	Среднее значение, мкг/кг	Значение предела повторяемости *r*, мкг/кг
Ячмень	7,4	—
Ячмень	14,4	3,1
Кукуруза	8,2	—
Кукуруза	16,3	9,2
Ячмень	3,0	1,28
Ячмень	2,9	1,37
Пшеничные отруби	4,5	2,16
Пшеничные отруби	3,8	2,23

8.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя отдельными результатами на идентичном образце, между двумя лабораториями, будет превышать предел воспроизводимости *R* не более чем в 5 % случаев, приведенных в таблице 2.

Таблица 2

Образец	Среднее значение, мкг/кг	Значение предела воспроизводимости *R*, мкг/кг
Ячмень	7,4	5,6
Ячмень	14,4	10,6
Кукуруза	8,2	4,8
Кукуруза	16,3	12,9
Ячмень	3,0	1,9
Ячмень	2,9	1,74
Пшеничные отруби	4,5	3,35
Пшеничные отруби	3,8	2,58

9 Протокол испытаний

В протоколе испытаний должны содержаться следующие данные:

- информация, необходимая для идентификации образца;
- использованный метод испытания и ссылку на настоящий стандарт;
- результаты и единицы измерений, в которых выражены результаты;
- дата и тип отбора образцов (если известно);
- дата получения лабораторной пробы;
- дата проведения испытаний;
- любые особенности, наблюдавшиеся в ходе испытаний;
- любые операции, не указанные в методе или считающиеся вспомогательными, которые могли повлиять на результаты.

Приложение А
(справочное)

Данные по прецизионности

В соответствии с [1] в межлабораторном испытании определены нижеследующие параметры. Испытание проводилось AOAC International в Купертино совместно с Международным союзом теоретической и прикладной химии (IUPAC) и Комитетом Северных стран по анализу пищевых продуктов (NMKL). В исследовании принимали участие 16 лабораторий из Европы, Канады и США, где в образцы ячменя и кукурузы добавлялись 10 мкг/кг и 20 мкг/кг охратоксина А [4], [5]. Результаты этого испытания даны в таблице А.1.

Таблица А.1 — Результаты испытаний

Образец	Ячмень	Ячмень	Кукуруза	Кукуруза
Год проведения межлабораторного испытания	1990	1990	1990	1990
Количество лабораторий	16	16	16	16
Количество образцов	1	2	1	2
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов (резко отклоняющихся значений)	15	14	15	15
Количество выбросов (лабораторий)	1	2	1	1
Количество принятых результатов	15	28	15	30
Среднее значение $\bar{x}$, мкг/кг	7,4	14,4	8,2	16,3
Среднеквадратическое отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	—	1,1	—	3,3
Относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости RSD_r, %	—	7,9	—	20,1
Предел повторяемости r, мкг/кг	—	3,1	—	9,2
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	2,0	3,8	1,7	4,6
Относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости RSD_R, %	27,2	26,5	20,7	28,4
Предел воспроизводимости R, мкг/кг	5,6	10,6	4,8	12,9
Выход, %	74	72	82	82

Во втором межлабораторном испытании 12 лабораторий в Европе анализировали образцы пшеничных отрубей, к которым был добавлен охратоксин А и образцы ячменя, загрязненные естественным способом. Концентрации охратоксина А находились в диапазоне от 3 до 9 мкг/кг [4], [5]. Результаты этого исследования даются в таблице А.2.

Таблица А.2 — Результаты испытаний

Образец	Ячмень	Ячмень	Пшеничные отруби	Пшеничные отруби
Год проведения межлабораторного испытания	1993	1993	1993	1993
Количество лабораторий	16	16	16	16
Количество образцов	2	2	2	2
Количество лабораторий, оставшихся после устранения выбросов	12	12	12	12
Количество выбросов (лабораторий)	4	4	4	4
Количество допустимых результатов	24	24	24	24
Среднее значение $\bar{x}$, мкг/кг	3,0	2,9	4,5	3,8
Среднеквадратическое отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	0,46	0,49	0,77	0,80

Окончание таблицы А.2

Образец	Ячмень	Ячмень	Пшеничные отруби	Пшеничные отруби
Относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости RSD_r, %	15,2	17,1	17,1	20,8
Предел повторяемости r, мкг/кг	1,28	1,37	2,16	2,23
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	0,68	0,62	1,20	0,92
Относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости RSD_R, %	22,6	21,7	26,5	24,2
Предел воспроизводимости R, мкг/кг	1,90	1,74	3,35	2,58
Выход, %	—	—	68	70

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
EN ISO 3696	—	*

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Библиография

[1] ISO 5725:1986 Precision of test methods — Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests (Точность методов испытаний. Определение повторяемости и воспроизводимости для стандартного метода испытаний посредством межлабораторных испытаний).

[2] AOAC INTERNATIONAL Official Methods of Analysis 16th Ed 1995, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Method 991.44.

[3] Nordic Committee on Food Analysis (1992) No 143. Ochratoxin A. Liquid chromatographic determination in barley and maize. (Комитет северных стран по анализу пищевых продуктов (1992 г.), № 143. Охратоксин А. Жидкостно-хроматографическое определение в ячмене и кукурузе).

[4] Nesheim, S., Stack, M.E., Trucksess, M.W., Eppley, R.M. and Krogh, P.: Rapid solvent-efficient method for liquid chromatographic determination of ochratoxin A in corn, barley and kidney: Collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1992, 75, 481—487.

[5] Larsson, K and Möller, T. (1996) LC-determination of ochratoxin A in barley, wheat-bran and rye with the AOAC/IUPAC/NMKL method: A NMKL collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., 79, 1996, 1102—1106

[6] Tauchmann, F.; Mintzlaff, H.-J.; Leistner, L.: Schutzmaßnahmen beim Arbeiten mit Mykotoxinen (Protective measures for working with mycotoxins) Alimenta 1972, 11, 85.

[7] Castegnaro, M., Hunt, D.C., Sansone, E.B., Schuller, P.L., Siriwardana, M.G., Telling, G.M., van Egmond, H.P., and Walker, E.A.: Laboratory decontamination and destruction of aflatoxins B1, B2 , G1 and G2 in laboratory wastes. In: IARC Scientific publication no 37, International Agency for Research on Cancer (WHO), Lyon, France; 1980, 59 p.

[8] Castegnaro, M., Barek, J., Fremy, J.M., Lafontaine, M., Miraglia, M., Sansone, E.B., and Telling, G.M.: Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory wastes. In: IARC Scientific publication no 113, International Agency for Research on Cancer (WHO), Lyon, France; 1991, 63 p.

[9] van Trijp, J.M.P. and Roos, A.H.: Model for the calculation of calibration curves, RIKILT Report 91.02, January 1991.

УДК 664.69:543.544.5:006.35 МКС 67.120

Ключевые слова: охратоксин А, зерно, высокоэффективная жидкостная хроматография

Редактор *Г.Н. Симонова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 21.11.2019. Подписано в печать 05.12.2019 Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.

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