МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 14718— 2017

КОРМА, КОМБИКОРМА

Определение содержания афлатоксина B_1 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(ISO 14718:1998, Animal feeding stuffs — Determination of aflatoxin B_1 content of mixed feeding stuffs — Method using high-performance liquid chromatography, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

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 Акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (АО «ВНИИКП») на основе официального перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5, который выполнен Акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (АО «ВНИИКП»)

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 4 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 сентября 2017 г. № 103-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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2017 г. № 1718-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 14718—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 14718:1998 «Корма для животных. Определение содержания афлатоксина B_1. Метод с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии» («Animal feeding stuffs — Determination of aflatoxin B_1 content of mixed feeding stuffs — Method using high-performance liquid chromatography», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 10 «Корма для животных» Технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6) для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

В настоящем стандарте заменены единицы измерения объема: «литр» на «дециметр кубический», «миллилитр» на «сантиметр кубический», «микролитр» на «миллиметр кубический» — для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001 (пункт 4.14.1).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Май 2020 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, 2017, 2020

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОРМА, КОМБИКОРМА

Определение содержания афлатоксина B_1 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Feeds, compound feeds. Determination of aflatoxin B_1 by high-performance liquid chromatography method

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на корма и комбикорма и устанавливает метод определения содержания афлатоксина B_1 высокоэффективной жидкостной хроматографией (далее — ВЭЖХ).

Нижний предел определения содержания афлатоксина B_1 составляет 1 мкг/кг.

Примечания

1 Настоящий стандарт может применяться для определения содержания афлатоксина B_1 в комбикормовом сырье и таких кормах, как кукурузный глютен, арахис, пальмовое ядро, копра, мякоть цитрусовых, тапиока, соя, рисовые отруби, ветки, семена рапса, нугаи и хлопчатника (см. [1] и [2]). Однако для этих продуктов не проводились межлабораторные испытания данным методом.

2 Настоящий стандарт также может применяться для определения содержания суммы афлатоксинов B_1, B_2, G_1 и G_2. Однако для этого показателя не проводились межлабораторные испытания метода.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий стандарт. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения):

ISO 6498:1998[1)], Animal feeding stuffs — Preparation of test sample (Корма для животных. Подготовка проб)

3 Сущность метода

Анализируемую пробу экстрагируют хлороформом. Экстракт фильтруют и аликвоту очищают на картриджах Florisil®[2)] и C_{18}. Окончательное разделение и определение афлатоксина B_1 достигается с использованием ВЭЖХ на обращенно-фазовой колонке C_{18} с последующей постколоночной дериватизацией йодом или бромом и флуоресцентным детектированием.

4 Реактивы

При анализе используют реактивы только признанной аналитической чистоты.

4.1 Вода, деминерализованная или деионизированная с удельным сопротивлением не менее 10 МОм·см или вода эквивалентной чистоты.

[1)] Заменен на ISO 6498:2012.

[2)] Картридж Florisil® типа Sep-Pak номер артикула 51960 и C_{18} типа Sep-Pak номер артикула 51910, от Waters Associates (Милуоки, США). Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является обязательной.

Издание официальное

4.2 Кислота серная концентрированная, $c(H_2SO_4)$ = 18 моль/дм^3, $\rho(H_2SO_4)$ = 1,84 г/см^3.

4.3 Кислота серная, $c(H_2SO_4)$ = 2 моль/дм^3.

Осторожно добавляют 105 см^3 концентрированной серной кислоты (см. 4.2) к 895 см^3 воды и хорошо перемешивают. Избегают чрезмерного нагревания раствора.

4.4 Контрольная проба.

Готовят контрольную пробу массой около 2 кг, содержащую приблизительно 5 мкг/кг афлатоксина B_1, путем объединения нескольких предварительно проанализированных проб с содержанием афлатоксина B_1 около 5 мкг/кг. Тщательно перемешивают.

Для контрольной пробы проводят пять испытаний по два параллельных определения содержания афлатоксина B_1 в соответствии с разделом 8. Из полученных результатов вычисляют среднеарифметическое значение содержание афлатоксина B_1, стандартное отклонение и коэффициент вариации.

4.5 Целит® 545, промытый кислотой, или продукт эквивалентного качества[3)].

4.6 Картридж Florisil®, типа Sep-Pak, Waters No. 51960 или продукт эквивалентного качества[4)].

4.7 Картридж C_{18}, типа Sep-Pak, Waters No. 51910 или продукт эквивалентного качества[4)].

4.8 Ацетон.

4.9 Метанол.

4.10 Ацетонитрил.

4.11 Хлороформ, стабилизированный этанолом (массовая доля от 0,5 % до 1,0 %).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Хлороформ является токсичным веществом. Необходимо избегать вдыхания и воздействия хлороформа. Все работы с ним и его растворами проводят в вытяжном шкафу.

Если используют другие стабилизаторы, то адсорбционные характеристики картриджа Florisil® (см. 4.6) могут измениться. В этом случае адсорбционные характеристики картриджа проверяют в соответствии с разделом 8.

4.12 Смесь ацетона с водой в соотношении 98:2 по объему

Смешивают 980 см^3 ацетона (см. 4.8) и 20 см^3 воды (см. 4.1). Тщательно перемешивают.

4.13 Смесь ацетона с водой в соотношении 15:85 по объему

Смешивают 150 см^3 ацетона (см. 4.8) и 850 см^3 воды (см. 4.1). Тщательно перемешивают.

4.14 Смесь ацетона с водой в соотношении 5:95 по объему

Смешивают 50 см^3 ацетона (см. 4.8) и 950 см^3 воды (см. 4.1). Тщательно перемешивают.

4.15 Смесь метанола с водой в соотношении 20:80 по объему

Смешивают 200 см^3 метанола (см. 4.9) и 800 см^3 воды (см. 4.1). Тщательно перемешивают.

4.16 Кислота азотная концентрированная, $c(HNO_3)$ = 14 моль/дм^3, $\rho(HNO_3)$ = 1,40 г/см^3, для ВЭЖХ с дериватизацией бромом.

4.17 Калия бромид (KBr), для ВЭЖХ с дериватизацией бромом.

4.18 Подвижная фаза для ВЭЖХ

4.18.1 Подвижная фаза для ВЭЖХ с дериватизацией йодом

Смешивают 120 см^3 ацетонитрила (см. 4.10), 210 см^3 метанола (см. 4.9) и 390 см^3 воды (см. 4.1) и перемешивают. Фильтруют раствор через мембранный фильтр из политетрафторэтилена (ПТФЭ) с размером пор 0,45 мкм, используя систему фильтрации растворителя (см. 5.1), перед использованием дегазируют в течение 10 мин в ультразвуковой бане (см. 5.2).

Примечание — Допускается изменять состав подвижной фазы растворителя в зависимости от характеристик используемой колонки ВЭЖХ.

[3)] Продукт торговой марки Целит®. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является обязательной. Могут быть использованы аналогичные картриджы, если они приводят к тем же результатам.

[4)] Картридж Florisil® типа Sep-Pak номер артикула 51960 и C18 типа Sep-Pak номер артикула 51910, от Waters Associates (Милуоки, США). Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является обязательной.

4.18.2 Подвижная фаза для ВЭЖХ с дериватизацией бромом

Смешивают 400 см^3 ацетонитрила (см. 4.10), 700 см^3 метанола (см. 4.9) и 1300 см^3 воды (см. 4.1) и перемешивают. Добавляют в эту смесь 286 мг бромида калия (см. 4.17) и 152 мм^3 концентрированной азотной кислоты (см. 4.16). Тщательно перемешивают и дегазируют потоком инертного газа в течение 15 мин.

4.19 Насыщенный раствор йода для ВЭЖХ с дериватизацией йодом

Добавляют 2 г йода в 400 см^3 воды. Перемешивают не менее 90 мин и фильтруют через мембранный фильтр из ПТФЭ с размером пор 0,45 мкм (см. 5.1). Раствор готовят в день использования.

Насыщенный раствор защищают от света для предотвращения фотодеградации.

4.20 Раствор натрия гипохлорита (для бытового использования), ρ(активного хлора) = 100 г/дм^3.

4.21 Раствор натрия гипохлорита, объемной долей 1 %

Смешивают 10 см^3 раствора гипохлорита натрия (см. 4.20) и 990 см^3 смеси воды с ацетоном (см. 4.14).

4.22 Инертный газ, например азот.

4.23 Афлатоксин B_1 образец сравнения ($C_{17}H_{12}O_6$), 2,3,6aα,9aα-тетрагидро-4-метоксициклопента[c]фуро[3′, 2′: 4,5]фуро [2,3-*h*] [1] бензопиран-1,11-дион; Chemical Abstracts Service Registry (CAS) номер 1162-65-8.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

1 Микотоксины являются чрезвычайно токсичными веществами. Все манипуляции с ними необходимо выполнять в вытяжном шкафу. Следует принимать особые меры предосторожности при использовании микотоксинов в сухой форме из-за их электростатической природы и тенденции к диспергированию в рабочих зонах.

2 Афлатоксины чувствительны к УФ-излучению. Поэтому все процедуры следует проводить при отсутствии солнечного или искусственного белого света. Достаточное, но не чрезмерное, освещение обеспечивают лампами накаливания. Допускается использование энергосберегающих и люминесцентных ламп, но при этом следует использовать посуду из темного стекла (виалы, мерные колбы).

3 Стеклянную посуду, используемую в работе с растворами афлатоксина B_1, перед мытьем следует залить на ночь раствором гипохлорита натрия (см. 4.21) для удаления, следов афлатоксина B_1.

4.24 Стандартный раствор афлатоксина B_1, ρ(афлатоксина B_1) = 10 мкг/см^3

Содержимое ампулы с афлатоксином B_1 (см. 4.23) переносят в колбу и растворяют в хлороформе (см. 4.11).

В мерную колбу необходимого объема переносят раствор афлатоксина B_1 и разбавляют до метки хлороформом так, чтобы получить раствор массовой концентрации афлатоксина B_1 около 10 мкг/см^3 и перемешивают.

Раствор помещают в виалу или герметичную емкость из темного стекла, плотно закрывают крышкой, заворачивают в алюминиевую фольгу и хранят в темноте при температуре 4 °С.

4.25 Основной раствор афлатоксина B_1

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 количественно переносят 2,5 см^3 стандартного раствора афлатоксина B_1 (см. 4.24) и разбавляют до метки хлороформом (см. 4.11).

Раствор помещают в виалу или герметичную емкость из темного стекла плотно закрывают крышкой, заворачивают в алюминиевую фольгу и хранят в темноте при температуре 4 °С.

4.26 Градуировочные растворы афлатоксина B_1

4.26.1 Градуировочный раствор I, ρ(афлатоксина B_1) ≈ 4 нг/см^3

Перед использованием виалу с основным раствором афлатоксина B_1 (см. 4.25) в алюминиевой фольге выдерживают несколько часов до достижения комнатной температуры.

В отмытую кислотой мерную колбу вместимостью 50 см^3 переносят 400 мм^3 основного раствора афлатоксина B_1 (что эквивалентно примерно 200 нг афлатоксина B_1) и упаривают раствор досуха в токе инертного газа (см. 4.22). Остаток растворяют в 20 см^3 смеси воды и ацетона (см. 4.13). Разбавляют до метки смесью воды с ацетоном и тщательно перемешивают.

4.26.2 Градуировочный раствор II, ρ(афлатоксина B_1) ≈ 3 нг/см^3

В отмытую кислотой мерную колбу вместимостью 10 см^3 количественно переносят 7,5 см^3 градуировочного раствора I (см. 4.26.1). Разбавляют до метки смесью воды с ацетоном (см. 4.13) и тщательно перемешивают.

4.26.3 Референтный градуировочный раствор, ρ(афлатоксина B_1) ≈ 2 нг/см^3

В отмытую кислотой мерную колбу вместимостью 50 см^3 количественно переносят 25 см^3 градуировочного раствора I (см. 4.26.1). Разбавляют до метки смесью воды с ацетоном (см. 4.13) и тщательно перемешивают.

Этот раствор используется для контрольных вводов во время проведения хроматографического анализа (8.5).

4.26.4 Градуировочный раствор III, ρ(афлатоксина B_1) ≈ 1 нг/см^3

В отмытую кислотой мерную колбу вместимостью 10 см^3 количественно переносят 2,5 см^3 градуировочного раствора I (см. 4.26.1). Разбавляют до метки смесью воды с ацетоном (см. 4.13) и тщательно перемешивают.

4.27 Хроматографический тестовый раствор

Вскрывают ампулу, содержащую приблизительно 1,0; 0,5; 1,0 и 0,5 мкг/см^3 афлатоксинов B_1, B_2, G_1, G_2 соответственно в 1 см^3 хлороформа.

Содержимое ампулы переносят в пробирку с притертой пробкой или виалу с завинчивающейся крышкой. В отмытую кислотой пробирку с притертой пробкой (см. 5.4) переносят 40 мм^3 этого раствора. Хлороформ выпаривают в потоке инертного газа (см. 4.22) и остаток растворяют в 10 см^3 смеси воды с ацетоном (см. 4.13).

5 Оборудование

Всю стеклянную лабораторную посуду, которая вступает в контакт с водными растворами афлатоксинов, перед использованием следует выдержать в растворе серной кислоты (см. 4.3) в течение нескольких часов, а затем тщательно ополоснуть (например, три раза) водой для удаления всех следов кислоты. Полноту удаления кислоты проверяют с помощью индикаторной бумаги.

Эта процедура необходима для круглодонной колбы роторного испарителя (см. 5.12), мерных колб, мерных цилиндров, виал или пробирок, используемых для приготовления и хранения градуировочных растворов, полученных экстрактов (в частности, виал автосемплера) и пипеток Пастера, которые используются для переноса градуировочных растворов или экстрактов.

Примечание — Указанная обработка посуды необходима, так как использование не промытой кислотой стеклянной посуды может привести к потерям афлатоксина B_1. Особое внимание следует обратить на новую стеклянную посуду и стеклянную посуду одноразового использования, например виалы автосемплера и пипетки Пастера.

Используют следующее лабораторное оборудование:

5.1 Система фильтрации растворителя, с ПТФЭ мембранными фильтрами с размером пор 0,45 мкм.

5.2 Ультразвуковая баня.

5.3 Микрошприц, вместимостью 100 мм^3, для приготовления градуировочных растворов.

Погрешность не должна превышать ± 2 % по массе, что проверяют взвешиванием.

5.4 Градуированные пробирки вместимостью 10 см^3.

5.5 Спектрофотометр, предназначенный для измерений оптической плотности в УФ-области спектра, в комплекте с кварцевыми кюветами длиной оптического пути (10 ± 0,1) мм.

5.6 Коническая колба вместимостью 500 см^3, изготовленная из боросиликатного стекла, с широким горлом и притертой пробкой или завинчивающейся крышкой, снабженной ПТФЭ прокладкой.

5.7 Механический шейкер, горизонтально вращающийся или с возвратно-поступательным движением, с частотой от 250 до 300 мин$^{-1}$.

5.8 Складчатый бумажный фильтр диаметром 24 см.

5.9 Трехходовой запорный кран с разъемом типа Luer®, устойчивый к хлороформу[5)].

5.10 Химически стойкий шприц вместимостью 10 см^3, с разъемом типа Luer®[6)].

5.11 Стеклянная колонка с внутренним диаметром от 10 до 15 мм, длиной от 30 до 50 см, снабженная наконечником для разъема типа Luer®[6)].

[5)] Оборудование торговой марки Luer®. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является обязательной. Может быть использовано аналогичное оборудование, если оно приводит к тем же результатам.

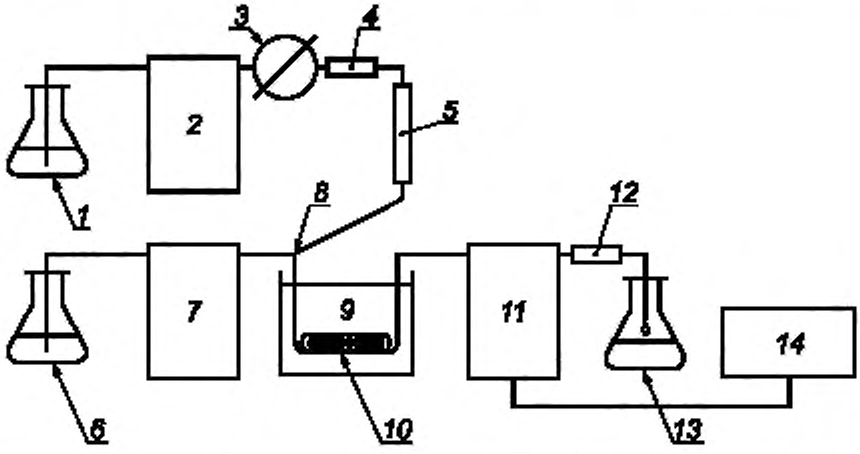
[6)] Оборудование торговой марки Luer®. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является обязательной. Может быть использовано аналогичное оборудование, если оно приводит к тем же результатам.

Примечание — Если используется стеклянная колонка с внутренним диаметром около 10 мм и длиной около 30 см, то рекомендуется использовать пластмассовый резервуар (химически стойкий цилиндр шприца) вместимостью не менее 70 см^3.

5.12 Роторный вакуумный испаритель, снабженный круглодонной колбой вместимостью от 150 до 250 см^3.

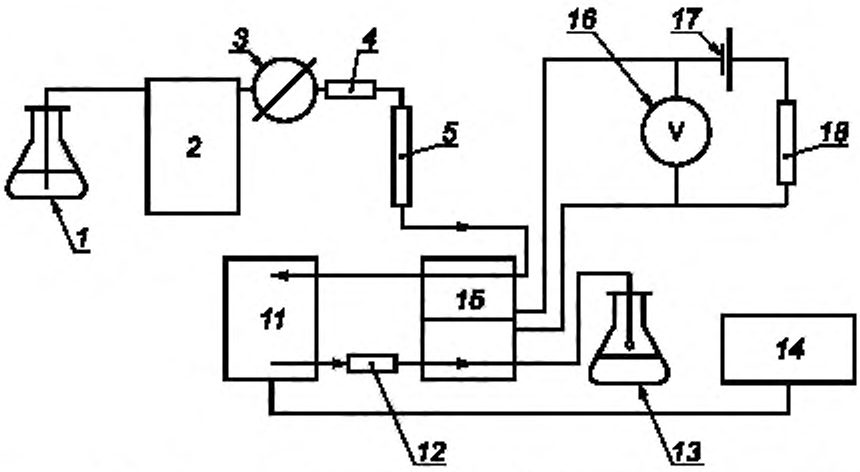
5.13 Общая часть системы для ВЭЖХ

На рисунках 1 и 2 схематически представлены системы ВЭЖХ для дериватизации йодом и бромом соответственно.



1 — подвижная фаза, *2* — насос высокого давления; *3* — инжектор; *4* — предколонка; *5* — аналитическая колонка, *6* — насыщенный раствор йода; *7* — насос для подачи реагента; *8* — смеситель-тройник, *9* — водяная баня (60 °С); *10* — реакционная спираль; *11* — флуоресцентный детектор; *12* — запорное устройство; *13* — сосуд для сбора сливов; *14* — самописец или интегратор

Рисунок 1 — Схема системы ВЭЖХ для дериватизации йодом



1 — подвижная фаза; *2* — насос высокого давления; *3* — инжектор; *4* — предколонка, *5* — аналитическая колонка. *11* — флуоресцентный детектор; *12* — запорное устройство; *13* — сосуд для сбора сливов; *14* — самописец или интегратор; *15* — дериватизационная ячейка (KOBRA®);*16* — вольтметр; *17* — блок питания постоянного тока 10 В; *18* — резистор, 100 кОм

Рисунок 2 — Схема системы ВЭЖХ для дериватизации бромом

5.13.1 Беспульсационный насос, способный поддерживать объемную скорость от 0,1 до 1,0 $см^3$/мин.

5.13.2 Инжектор, обеспечивающий объем ввода 250 $мм^3$.

5.13.3 Флуоресцентный детектор, с возбуждением при длине волны 365 нм и регистрацией излучения на длине волны 435 нм (для фильтровых детекторов — светофильтр с пропусканием при длинах волн более 400 нм), обеспечивающий обнаружение не менее 0,05 нг афлатоксина B_1. Допускается применение обратного давления (например, путем применения запорного устройства или спирали из нержавеющей стали или ПТФЭ, подключенных к выходу детектора) для подавления пузырьков воздуха в проточной кювете.

5.13.4 Регистрирующее устройство.

5.13.5 Предколонка: наполнитель C_{18} с размером частиц от 37 до 50 мкм, длина от 10 до 20 мм, внутренний диаметр 3,9 мм; или аналогичного качества.

5.13.6 Аналитическая колонка: наполнитель C_{18} с размером частиц от 3 или 5 мкм, длина 200 мм, внутренний диаметр 3,0 мм; или аналитическая колонка аналогичного качества.

5.13.7 Электронный интегратор (не обязательно).

5.14 Система ВЭЖХ при использовании постколоночной дериватизации йодом

5.14.1 Беспульсационный насос для подачи йодного реагента после колонки.

5.14.2 Тройник с нулевым мертвым объемом из нержавеющей стали, 1,59 × 0,75 мм.

5.14.3 Реакционная спираль, выполненная из ПТФЭ или нержавеющей стали.

Установлено, что для аналитических колонок с размерами частиц 5 или 3 мкм подходят спирали с размерами от 3000 × 0,5 мм до 5000 × 0,5 мм.

5.14.4 Термостатируемая водяная баня или термостат, поддерживающие температуру до 60 °С, способные регулировать температуру с точностью до ± 0,1 °С.

5.15 Система ВЭЖХ при использовании постколоночной дериватизации бромом

5.15.1 Система электрохимической дериватизации бромом (KOBRA®[7]).

5.15.2 Блок питания, напряжение постоянного тока от 0 до 20 В.

5.15.3 Вольтметр с диапазоном измерения от 0 до 10 В постоянного тока, имеющий сопротивление более 50 кОм.

5.15.4 Резистор, 100 кОм.

5.16 Шприц для ВЭЖХ с объемом ввода 250 $мм^3$.

6 Отбор проб

Отбор проб для испытаний не является составной частью метода, описываемого в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в [7].

Поступающая в лабораторию проба должна быть представительной, не поврежденной и не загрязненной во время транспортирования и хранения.

7 Подготовка пробы для испытаний

Пробу для испытания готовят в соответствии с ISO 6498.

Лабораторную пробу (500 г) измельчают так, чтобы она полностью проходила через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Тщательно перемешивают.

8 Проведение испытания

8.1 Общие положения

С каждой серией проб проводят анализ холостой пробы, в которую внесена добавка афлатоксина B_1, равная 10 мкг/кг, или контрольной пробы (см. 4.4). Постоянно включают холостую пробу в каждую серию проб для проверки загрязнения стеклянной посуды.

Результаты должны соответствовать критериям, указанным в разделе 10.

[7] Устройство торговой марки KOBRA®. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является обязательной. Могут быть использованы аналогичные устройства, если они приводят к тем же результатам.

8.2 Регистрация спектра поглощения стандартного раствора афлатоксина B_1

Спектр поглощения стандартного раствора афлатоксина B_1 (см. 4.24) регистрируют в диапазоне длин волн от 330 до 370 нм с помощью спектрофотометра (см. 5.5) с использованием хлороформа в качестве раствора сравнения. Регистрируют оптическую плотность (A) в максимуме поглощения около 363 нм.

8.3 Экстракция

В коническую колбу (см. 5.6) взвешивают (50,0 ± 0,1) г подготовленной анализируемой пробы (см. раздел 7). Последовательно добавляют 25 г целита (см. 4.5), 250 см^3 хлороформа (см. 4.11) и 25 см^3 воды. Закрывают колбу, перемешивают и стравливают давление. Снова закрывают колбу и встряхивают ее в течение 30 мин на механическом шейкере (см. 5.7).

Примечание — Чтобы уменьшить расход хлороформа, допускается использовать половину указанного количества; т.е. 25,0 г подготовленной анализируемой пробы (см. раздел 7), 12,5 г целита (см. 4.5); 125 см^3 хлороформа (см. 4.11) и 12,5 см^3 воды.

Смесь фильтруют через складчатый бумажный фильтр (см. 5.8). Если фильтрация осуществляется медленно, воронку накрывают, чтобы предотвратить испарение хлороформа. Собирают 50 см^3 фильтрата (V_s).

В случае необходимости отбирают аликвоту фильтрата и разбавляют до 50 см^3 (V_f) хлороформом так, чтобы массовая концентрация афлатоксина B_1 не превышала 4 нг/см^3.

Полученный фильтрат очищают в соответствии с 8.4.

8.4 Очистка

Процедуру очистки проводят без длительных перерывов.

8.4.1 Очистка на картридже Florisil®

8.4.1.1 Подготовка узла колоночного картриджа

К более короткому концу картриджа Florisil® (см. 4.6) присоединяют запорный кран (см. 5.9). Промывают картридж и удаляют воздух, взяв 10 см^3 хлороформа (см. 4.11) и быстро пропуская 8 см^3 через запорный кран и картридж с помощью шприца (см. 5.10).

Длинный конец картриджа присоединяют к стеклянной колонке (см. 5.11) и пропускают оставшиеся 2 см^3 хлороформа через картридж в колонку. Закрывают запорный кран и удаляют шприц.

8.4.1.2 Очистка

На собранный колоночный картридж наносят фильтрат (V_s или V_f), полученный по 8.3, и пропускают под действием силы тяжести. Промывают 5 см^3 хлороформа (см. 4.11), а затем 20 см^3 метанола (см. 4.9). Элюаты отбрасывают.

Не допускается высыхание собранного колоночного картриджа.

Афлатоксин B_1 элюируют с помощью 50 см^3 смеси воды и ацетона (см. 4.12) и собирают элюат в круглодонную колбу роторного испарителя (см. 5.12).

Примечание — Качество картриджа Florisil® изменяется в зависимости от партии, поэтому 50 см^3 смеси воды и ацетона (см. 4.12) может быть недостаточным для элюирования. В этом случае рекомендуется использовать от 60 до 70 см^3 смеси воды и ацетона (см. 4.12).

Элюат концентрируют на роторном испарителе при температуре от 40 °С до 50 °С до удаления ацетона.

Примечание — К этому моменту в колбе остается около 0,5 см^3 жидкости. Остатки ацетона могут привести к потерям афлатоксина B_1 на картридже C_{18}. Эксперименты показали, что когда остается 0,5 см^3 жидкости, количество ацетона незначительно и дальнейшее испарение нецелесообразно.

Добавляют 1 см^3 метанола (см. 4.9), вращая колбу для растворения афлатоксина B_1, осевшего на стенках колбы, добавляют 4 см^3 воды и перемешивают. Картридж отсоединяют и утилизируют. Промывают стеклянную колонку водой и оставляют для стадии очистки на картридже C_{18} (см. 8.4.2).

8.4.2 Очистка на картридже C_{18}

8.4.2.1 Подготовка собранного колоночного картриджа

К более короткому концу картриджа C_{18} (см. 4.7) присоединяют запорный кран (см. 5.9). Промывают картридж и удаляют воздух путем быстрого пропускания 10 см^3 метанола (см. 4.9) через запорный кран и картридж с помощью шприца (см. 5.10). Воздушные пузырьки в картридже видны как светлые пятна на сероватом фоне. Отбирают 10 см^3 воды и пропускают 8 см^3 через картридж. Следует избегать попадания воздуха в картридж при замене метанола на воду.

Длинный конец картриджа присоединяют к стеклянной колонке (см. 5.11) и пропускают оставшиеся 2 $см^3$ воды через картридж в колонку. Закрывают запорный кран. Удаляют шприц.

8.4.2.2 Очистка

Полученный в 8.4.1.2 экстракт количественно переносят в стеклянную колонку (см. 5.11), промывая колбу дважды 5 $см^3$ смеси воды с метанолом (см. 4.15), и пропускают под действием силы тяжести.

В ходе этих операций необходимо контролировать, чтобы колонка с картриджем не высохли. Если в картридже появляются воздушные пузырьки, то поток останавливают, слегка постукивают по верхней части стеклянной колонки для удаления пузырьков воздуха, затем продолжают очистку.

Элюируют 25 $см^3$ смеси воды с метанолом (см. 4.15). Элюат отбрасывают. Афлатоксин B_1 элюируют 25 $см^3$ смеси воды с ацетоном (см. 4.13) и собирают элюат в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$. Объем раствора в колбе доводят до метки водой и перемешивают. Полученный раствор используют для хроматографии (см. 8.5).

Примечание — Фильтрование конечного экстракта перед хроматографическим анализом не является обязательным. Если оно признано необходимым, то не следует использовать фильтры из целлюлозы, поскольку они могут приводить к потерям афлатоксина B_1. Рекомендуется использовать фильтры из ПТФЭ.

8.5 Проведение хроматографического анализа

8.5.1 Общие рекомендации

Объемные скорости, приведенные для подвижной фазы и постколоночного реагента, являются лишь ориентировочными. Они должны быть скорректированы в зависимости от характеристик аналитической колонки.

Отклик детектора для афлатоксина B_1 зависит от температуры, поэтому необходимо корректировать дрейф.

Регулярно вводят (например, каждый третий ввод) фиксированное количество референтного градуировочного раствора (см. 4.26.3). Характеристики пика афлатоксина B_1 корректируют с помощью среднеарифметического значения результатов для референтного градуировочного раствора при условии, что разница между результатами последовательных измерений референтного градуировочного раствора очень мала (менее 10 %). Поэтому рекомендуется вводить растворы без перерывов. Если перерыв необходим, то последний ввод до него и первый ввод после него должны быть вводами референтного градуировочного раствора (см. 4.26.3).

Поскольку градуировочная зависимость линейна и проходит через начало координат, то массу афлатоксина B_1 в анализируемом экстракте определяют на основе ближайших результатов для референтного градуировочного раствора.

8.5.2 Параметры насоса высокого давления

Насос (см. 5.13.1) регулируют таким образом, чтобы получить объемную скорость подвижной фазы (см. 4.18) 0,5 или 0,3 $см^3$/мин для аналитической колонки с размером частиц 5 или 3 мкм (см. 5.13.6) соответственно.

Если используется дериватизация йодом, продолжают процедуру по 8.5.3.

Если используется дериватизация бромом, продолжают процедуру по 8.5.4.

8.5.3 Параметры насоса для подачи реактива при дериватизации йодом

Регулируют насос (см. 5.14.1) таким образом, чтобы получить объемную скорость насыщенного раствора йода (см. 4.19) в интервале от 0,2 до 0,4 $см^3$/мин. В качестве приблизительного ориентира рекомендуется значение объемной скорости около 0,4 или 0,2 $см^3$/мин в сочетании со значениями объемной скорости подвижной фазы (см. 4.18) 0,5 и 0,3 $см^3$/мин соответственно.

8.5.4 Флуоресцентный детектор

Флуоресцентный детектор (см. 5.13.3) настраивают на длину волны возбуждения 365 нм и длину волны регистрации излучения 435 нм (с фильтром — более 400 нм). Аттенюатор (ослабитель) детектора устанавливают таким образом, чтобы отклик от 1 нг афлатоксина B_1 составлял приблизительно 80 % от полной шкалы регистрирующего устройства.

8.5.5 Инжектор

Для всех растворов вводят объем, равный 250 $мм^3$, в соответствии с инструкцией изготовителя инжектора.

8.5.6 Проверка хроматографического разделения

Вводят хроматографический тестовый раствор (см. 4.27). Длины между соседними пиками должны составлять менее 5 % суммы их высот.

8.5.7 Проверка стабильности системы

Перед каждой серией исследований вводят референтный градуировочный раствор (см. 4.26.3) до тех пор, пока не будут достигнуты стабильные высоты пика. Характеристики пиков афлатоксина B_1 для последовательных вводов этого раствора не должны отличаться больше чем на 6 %. Затем сразу же переходят к проверке линейности (см. 8.5.8).

8.5.8 Проверка линейности

Вводят градуировочные растворы афлатоксина B_1 (см. 4.26.1—4.26.4). При каждом третьем вводе используют референтный градуировочный раствор (см. 4.26.3) для коррекции дрейфа отклика. Характеристики пика для вводов референтного градуировочного раствора не должны отличаться больше чем на 10 % за 90 мин. Дрейф корректируют в соответствии с формулой, приведенной в 9.3.

Градуировочный график должен быть линейным и проходить через начало координат в пределах удвоенного стандартного отклонения оценки отклика. Найденные значения не должны отличаться более чем на 3 % от номинальных значений.

Если эти требования выполнены, то испытания продолжают. В противном случае, выявляют и устраняют источники несоответствий.

8.5.9 Ввод экстрактов проб

Последовательно вводят референтный градуировочный раствор (см. 4.26.3), экстракт холостой пробы, экстракт холостой пробы с добавкой афлатоксина B_1, референтный градуировочный раствор (см. 4.26.3), экстракт стандартного образца или контрольной пробы (см. 4.4) и снова референтный градуировочный раствор (см. 4.26.3).

Вводят очищенный по 8.4.2.2 анализируемый экстракт. После каждых двух экстрактов проб повторяют ввод референтного градуировочного раствора (см. 4.26.3). Если серия содержит более 10 проб, то последними вводами должны быть градуировочные растворы афлатоксина B_1 (см. 4.26.1—4.26.4).

9 Вычисление результатов

9.1 Вычисление массовой концентрации афлатоксина B_1 в стандартном растворе афлатоксина B_1

Содержание афлатоксина B_1 в стандартном растворе афлатоксина B_1 (см. 4.24) ρ, мг/см^3, вычисляют по формуле

$$\rho = \frac{M \cdot A}{d \cdot k}, \quad (1)$$

где M — молярная масса афлатоксина B_1, г/моль (M = 312 г/моль);

A — оптическая плотность, измеренная относительно раствора сравнения (см. 8.2);

d — длина оптического пути в кювете, см (d = 1 см);

k — молярный коэффициент поглощения афлатоксина B_1 в хлороформе при длине волны 363 нм, дм$^3 \cdot$моль$^{-1} \cdot$см$^{-1}$ (k = 22300 дм$^3 \cdot$моль$^{-1} \cdot$см$^{-1}$).

9.2 Вычисление массы афлатоксина B_1 во введенном референтном градуировочном растворе

Массу афлатоксина B_1 во введенном референтном градуировочном растворе (см. 4.26.3) m_c, нг, вычисляют по формуле

$$m_c = f \cdot \rho \cdot V_{ic}, \quad (2)$$

где f — коэффициент, учитывающий разбавление и согласование единиц массы, нг/мг (f = 200 нг/мг);

ρ — массовая концентрация афлатоксина B_1 в стандартном растворе афлатоксина B_1 (см. 4.24), вычисленная по формуле (1), мг/см^3;

V_{ic} — объем введенного референтного градуировочного раствора (см. 4.26.3), см^3 (V_{ic} = 0,25 см^3).

9.3 Вычисление массы афлатоксина B_1 в анализируемом экстракте

Массу афлатоксина B_1 в анализируемом экстракте m_a, нг, вычисляют по формуле

$$m_a = \frac{A_s \cdot 2m_c}{A_{c1} + A_{c2}}, \quad (3)$$

где A_s — площадь пика, соответствующего афлатоксину B_1, в анализируемом экстракте, в единицы площади;

m_c — масса афлатоксина B_1 во введенном референтном градуировочном растворе (см. 4.26.3), рассчитанная по 9.2, нг;

A_{c1} — площадь пика, соответствующего афлатоксину B_1, для предыдущего ввода референтного градуировочного раствора (см. 4.26.3), единицы площади;

A_{c2} — площадь пика, соответствующего афлатоксину B_1, для последующего ввода референтного градуировочного раствора (см. 4.26.3), единицы площади.

Примечание — В вычислениях вместо площади пика допускается использовать высоты пика (в единицах длины).

9.4 Вычисление содержания афлатоксина B_1 в пробе

Содержание афлатоксина B_1 в пробе w_a, мкг/кг, вычисляют по формуле

$$w_a - \frac{m_a \cdot V_s \ V_c}{m_s \cdot V_{is} \cdot V_f}, \quad (4)$$

где m_a — масса афлатоксина B_1 в анализируемом экстракте, вычисленная по формуле (3), нг;

V_s — объем неразбавленного экстракта пробы, полученного в 8.3, используемого в последующей процедуре, см^3; (V_s = 50 см^3, если не нужно разбавлять фильтрат, полученный по 8.3);

m_s — масса анализируемой пробы, г (m_s=50,0 г);

V_{is} — объем введенного анализируемого экстракта, см^3 (V_{is} = 0,25 см^3);

V_f — объем фильтрата, использованного для очистки (см. 8.4), см^3, (V_f = 50 см^3);

V_c — объем хлороформа, использованного для экстракции образца (см. 8.3), см^3, (V_c = 250 см^3).

Если m_s = 50,0 г, V_s = 50 см^3, V_{is} = 0,25 см^3, V_f = 50 см^3 и V_c = 250 см^3, то формула приобретает следующий вид:

$$w_a = 20 \cdot m_a. \quad (5)$$

10 Точность

10.1 Систематическая погрешность

Метод верифицируют путем повторных испытаний сертифицированных стандартных образцов или контрольных проб. Если они недоступны, то метод верифицируют с помощью экспериментов по оценке выхода, проведенных на холостых пробах с добавками афлатоксина B_1. Отклонение среднего значения от фактического значения, выраженное в процентах, должно находиться в пределах от минус 20 % до 10 %.

10.2 Прецизионность

10.2.1 Межлабораторные испытания

Детали межлабораторных испытаний прецизионности метода приведены в приложении А. Значения, полученные в этих межлабораторных испытаниях, могут быть не применимы к диапазонам концентраций и пробам, отличающимся от указанных в настоящем стандарте.

В приложении В приведена сводка статистических результатов межлабораторных испытаний по подтверждению эквивалентности дериватизации йодом и бромом.

10.2.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух отдельных независимых испытаний, полученными при использовании одного и того же метода на одной лабораторной пробе в одной лаборатории одним и тем же оператором на одном и том же оборудовании в пределах короткого промежутка времени, более чем в 5 % случаев не должно превышать предела повторяемости r, мкг/кг, полученного по формуле

$$r = 0{,}37 + 0{,}19\,\overline{w}_a, \ (w_a \leq 15 \text{ мкг/кг}), \quad (6)$$

где $\overline{w}_a$ — среднеарифметическое значение двух результатов испытаний, мкг/кг.

10.2.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых испытаний, полученными при использовании одного и того же метода на идентичных пробах в разных лабораториях разными операторами на различных экземплярах оборудования, более чем в 5 % случаев не должно превышать предела воспроизводимости R, мкг/кг, полученного по формуле

$$R = 0{,}67 + 0{,}33\,\overline{w}_a, \quad (w_a \le 15 \text{ мкг/кг}), \tag{7}$$

где $\overline{w}_a$ — среднеарифметическое значение двух результатов испытаний, мкг/кг.

11 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать следующее:

- всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- использованный метод отбора проб, если известен;
- использованный метод испытаний, со ссылкой на настоящий стандарт;
- все детали работы, не установленные в настоящем стандарте, или считающиеся необязательными, наряду с описанием всех случаев, которые могли повлиять на результат(ы) испытаний;
- полученный результат испытания или полученный окончательный результат, если была проведена проверка повторяемости.

Приложение А
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

Прецизионность метода была установлена в межлабораторных испытаниях, проведенных в соответствии с [6]. В этом испытании приняли участие 22 лаборатории из 11 европейских стран. В исследовании использовали шесть неизвестных образцов, состоящих из слепых повторяющихся образцов комбикормов с содержанием афлатоксина B_1 менее 2 мг/кг, 8 мг/кг и 14 мг/кг.

Таблица А.1 — Статистические результаты межлабораторных испытаний методом, применяющим дериватизацию йодом

Параметр	Проба[a)]		
	1	2	3
Число лабораторий после удаления выбросов	15	15	15
Среднее значение содержания афлатоксина B_1, мкг/кг	0,8	7,0	12,6
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мкг/кг	0,20	0,44	1,20
Коэффициент вариации повторяемости, %	25,0	6,3	9,5
Предел повторяемости r (r =2,8s_r), мкг/кг	0,55	1,24	3,37
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мкг/кг	0,34	1,02	1,80
Коэффициент вариации воспроизводимости, %	42,5	14,6	14,3
Предел воспроизводимости R (R = 2,8s_R), мкг/кг	0,95	2,86	5,05

[a)] Проба 1: без добавки; определенное содержание афлатоксина B_1 менее 2 мг/кг; состав: 10 % ячменя, 20 % маниока, 15 % мякоти цитрусовых, 20 % соевого шрота, 10 % жидкой мелассы, 20 % концентрата для крупного рогатого скота, 1,7 % жира, 1,5 % дикальцийфосфат и 0,7 % соли.
Проба 2: добавка афлатоксина B_1 в количестве 8 мкг/кг; другие компоненты, как в пробе 1.
Проба 3: добавка афлатоксина B_1 в количестве 14 мкг/кг; другие компоненты, как в пробе 1.

Примечание — В отчете о межлабораторных испытаниях [3] указанные значения r и R (см. таблицу А.2) отклоняются от таковых в таблице А.1. Различия обусловлены тем, что вычисления были выполнены с использованием натуральных логарифмов результатов измерений и использованием отличающихся определений r и R. В таблице А.2 r — максимальное расхождение двух определений для одной и той же пробы в одной лаборатории в аналогичных условиях, которые не имеют существенного значения при доверительной вероятности 95 %. R аналогично определяют из сравнения результатов двух разных лабораторий, всегда используя единичные определения.

Таблица А.2 — Сводка опубликованных статистических результатов межлабораторных испытаний

Содержание афлатоксина B_1, мкг/кг	r, мкг/кг	R, мкг/кг	Коэффициент вариации повторяемости, %	Коэффициент вариации воспроизводимости, %
8 или 14	1,4	1,7	11	18

Приложение В
(справочное)

Эквивалентность методов, применяющих дериватизацию йодом и бромом

Эквивалентность методов, применяющих дериватизацию йодом и бромом, может быть подтверждена опубликованными данными [3] и [4]. Кроме того, эквивалентность видна из данных, собранных KDLL (Kwaliteitsdienst Landbouwkundige LABORATORIA: Качество обслуживания для сельскохозяйственных лабораторий, Нидерланды) в период с октября 1992 г. по июль 1994 г. В этот период был проведен ряд межлабораторных испытаний, в котором оба метода дериватизации тестировали на нескольких различных смесях и кормах с содержанием афлатоксина B_1 между 2 мкг/кг и 90 мкг/кг. Результаты этих межлабораторных испытаний приведены в таблице В.1.

Таблица В.1 — Статистические результаты межлабораторных испытаний эквивалентности дериватизации йодом и бромом

Проба	Дериватизация йодом [a]			Дериватизация бромом [a]			Значение [b]
	$\bar{w}_a$	n	s	$\bar{w}_a$	n	s	
Гранулированный корм для скота	2,1	4	0,4	2,1	8	0,3	н.с.
	2,2	4	0,3	2,2	8	0,3	н.с.
	2,2	6	0,5	1,9	11	0,3	н.с.
	2,3	6	0,5	2,0	11	0,4	н.с.
	4,5	3	0,2	4,8	8	0,4	н.с.
	4,7	3	0,2	4,7	8	0,5	н.с.
	5,0	6	0,8	5,4	11	0,9	н.с.
	5,1	6	0,7	5,4	11	0,8	н.с.
	8,3	5	1,6	9,0	10	1,0	н.с.
	9,6	5	1,1	10,1	10	1,7	н.с.
	10,8	6	1,6	9,5	9	1,6	н.с.
	12,1	6	1,4	11,8	9	1,8	н.с.
Кукурузный глютен	16,3	6	2,3	16,4	11	2,0	н.с.
	17,6	6	2,4	18,9	11	1,5	н.с.
Копра	19,7	6	4,4	8	8	2,7	н.с.
	20,1	6	3,1	8	8	2,3	н.с.
	27,9	4	3,4	8	8	1,6	н.с.
	29,0	4	3,1	8	8	1,7	$p < -0,01$
Пальмовое ядро и арахисовое	38,1	6	7,4	11	11	5,3	н.с.
	53,7	6	10,7	11	11	7,3	н.с.
Арахис	82,0	4	4,1	7	7	7,1	н.с.
	83,0	4	9,9	7	7	10,7	н.с.
Арахис и копра	80,0	4	5,5	9	9	7,3	н.с.
	85,5	4	9,2	9	9	9,9	н.с.

[a] $\bar{w}_a$ — среднее содержание афлатоксина B_1, мкг/кг;
n — количество результатов;
s — стандартное отклонение.

[b] н.с. — означает, что не имеет существенного значения в Т-тесте Стьюдента, дериватизацию йодом тестировали по отношению к дериватизации бромом.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 6498:1998	MOD	ГОСТ 31218—2003 (ИСО 6498:1998) «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб»[1)]
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - MOD — модифицированный стандарт.		

[1)] Действует ГОСТ ISO 6498—2014 «Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний», идентичный ISO 6498:2012.

Библиография

[1] Traag W.A., van Trijp J.M.P., Tuinstra L.G.M.Th. and Kok W.Th. Sample clean-up and post-column derivatization for the determination of Aflatoxin B_1 in feedstuffs by liquid chromatography. J. Chrom., 396, pp. 389—394 (1987)

[2] RIKILT-DLO, SOP A0446, State Institute for the Control of Agricultural Products, Agricultural Research Department (DLO), Grondstoffen voor veevoeder. Screening op het gehalte aan aflatoxine B_1 — High Performance Liquid Chromatography — Post-column derivatisering — Fluorescentiedetectie (Screening of straight feedingstuffs on aflatoxin B_1 by HPLC and fluorescence detection)

[3] van Egmond H.P., Heisterkamp S.H. and Paulsch W.E. EC-collaborative study on the determination of aflatoxin B_1 in animal feeding stuffs. Food Additives and Contaminants, 8, pp.17—29 (1991)

[4] van Egmond H.P., Patel S., Paulsch W.E., Sizoo E.A. Tuinstra L.G.M.Th., Wood G., Boenke A., Schurer B. and Wagstaffe P.J. The development of five animal feed reference materials, certified for their aflatoxin B_1 content. Food Additives and Contaminants, 11, pp. 449—477 (1994)

[5] ISO 5725-1:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions. (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерения. Часть 1. Общие принципы и определения)

[6] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basicmethod for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерения. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения)

[7] ISO 6497 Animal feeding stuffs — Sampling (Корма для животных. Отбор проб)

[8] ISO 6651 Animal feeding stuffs — Determination of aflatoxin B_1 content (TLC methods). (Корма для животных. Полуколичественное определение содержания афлатоксина B_1. Методы тонкослойной хроматографии)

УДК 663/664.777:006.354 МКС 65.120

Ключевые слова: корма, комбикорма, афлатоксин B_1, экстракция хлороформом, очистка, обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, градуировочные растворы, дериватизация бромом, дериватизация йодом

Редактор переиздания *Е.И. Мосур*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 06.05.2020. Подписано в печать 05.06.2020 Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10.
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.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru