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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34743— 2021

ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ РЫБНАЯ

Метод определения фикотоксинов в двустворчатых моллюсках с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2021

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 июля 2021 г. № 59)

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
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 26 августа 2021 г. № 829-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34743—2021 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 декабря 2021 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных 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»

© Оформление. ФГБУ «РСТ», 2021

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 Термины, определения, обозначения и сокращения 2
4 Сущность метода 3
5 Условия выполнения измерений и требования безопасности 3
6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы 4
7 Подготовка к проведению измерений 6
7.1 Подготовка лабораторной посуды и реактивов 6
7.2 Приготовление растворов подвижных фаз 6
7.3 Приготовление вспомогательных растворов 6
7.4 Приготовление рабочих стандартных растворов фикотоксинов 7
7.5 Приготовление матричных градуировочных растворов 9
7.6 Установление градуировочной характеристики 10
8 Отбор и подготовка проб 10
8.1 Отбор и подготовка проб двустворчатых моллюсков 10
8.2 Подготовка проб для определения липофильных фикотоксинов 10
8.3 Подготовка проб для определения гидрофильных фикотоксинов 10
8.4 Подготовка проб для определения домоевой кислоты 11
9 Порядок выполнения анализа 11
9.1 Условия хроматографического разделения 11
9.2 ВЭЖХ-МС/МС-измерение 14
10 Обработка результатов измерений 15
11 Метрологические характеристики 15
12 Оформление результатов измерений 16
13 Контроль качества результатов измерений 17

Поправка к ГОСТ 34743—2021 Продукция пищевая рыбная. Метод определения фикотоксинов в двустворчатых моллюсках с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Дата введения — 2021—09—02

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения

(ИУС № 1 2022 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ РЫБНАЯ

Метод определения фикотоксинов в двустворчатых моллюсках с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Fish food products. Method for determining mycotoxins in bivalves using high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection

Дата введения — 2021—12—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевую рыбную продукцию — двустворчатых моллюсков — и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (далее — ВЭЖХ-МС/МС) для определения массовой доли фикотоксинов в диапазоне измерений:

- для азаспирацида-1, азаспирацида-2, азаспирацида-3, азаспирацида-4, азаспирацида-5 от 1 до 50 мкг/кг;
- для сакситоксина, декарбамоил-сакситоксина, неосакситоксина, декарбамоил-неосакситоксина, гониаутоксина-2, гониаутоксина-3, гониаутоксина-5, гониаутоксина-6, декарбамоил-гониаутоксина-2, декарбамоил-гониаутоксина-3, *N*-сульфокарбамоил-гониаутоксина-2, *N*-сульфокарбамоил-гониаутоксина-3 от 40 до 1600 мкг/кг;
- для окадаиковой кислоты, динофизистоксина-1, динофизистоксина-2 от 62,5 до 625 мкг/кг;
- для пектенотоксина-2, 13-десметилспиролида *C*, 13,19-дидесметилспиролида *C*, 20-метилспиролида *G*, йессотоксина, гомойессотоксина от 50 до 500 мкг/кг;
- для бреветоксина-2 от 100 до 500 мкг/кг;
- для домоевой кислоты от 2000 до 40 000 мкг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

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

ГОСТ 12.1.018 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

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

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

ГОСТ 61 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

Издание официальное

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5848 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 7636—85 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа

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

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

ГОСТ 31339 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ ИСО 5725-6—2003* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ ISO 7886-1 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

ГОСТ ISO/IEC 17025 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

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

3 Термины, определения, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1.1

фикотоксины (phycotoxin): Природные ядовитые вещества, продуцируемые некоторыми видами водорослей и микроводорослей и способные накапливаться в моллюсках (кроме головоногих) и внутренних органах крабов.

[[1], раздел II]

3.2 В настоящем стандарте применены следующие обозначения и сокращения:

- липофильные фикотоксины:
  - AZA-1 — азаспирацид-1;
  - AZA-2 — азаспирацид-2;
  - AZA-3 — азаспирацид-3;
  - AZA-4 — азаспирацид-4;
  - AZA-5 — азаспирацид-5;
  - BTX-2 — бреветок син-2;
  - hYTX — гомойессотоксин;
  - DTX-1 — динофизистоксин-1;
  - DTX-2 — динофизистоксин-2;
  - YTX — йессотоксин;
  - PTX-2 — пектенотоксин-2;

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

- OA — окадаиковая кислота;
- 13-desMeC — 13-десметилспиролид C;
- 13,19-didesMeC — 13,19-дидесметилспиролид C;
- SPX20G — 20-метилспиролид G;

- гидрофильные фикотоксины:
  - GTX-2 — гониаутоксин-2;
  - GTX-3 — гониаутоксин-3;
  - GTX-5 — гониаутоксин-5;
  - GTX-6 — гониаутоксин-6;
  - DC-GTX-2 — декарбамоил-гониаутоксин-2;
  - DC-GTX-3 — декарбамоил-гониаутоксин-3;
  - DC-NEOSTX — декарбамоил-неосакситоксин;
  - DC-STX — декарбамоил-сакситоксин;
  - NEOSTX — неосакситоксин;
  - N-SC-GTX-2 — N-сульфокарбамоил-гониаутоксин-2;
  - N-SC-GTX-3 — N-сульфокарбамоил-гониаутоксин-3;
  - STX — сакситоксин;
  - DA — домоевая кислота;
  - CAS — уникальный численный идентификатор химических соединений, полимеров, биологических последовательностей нуклеотидов или аминокислот, смесей и сплавов, внесенных в реестр Chemical Abstracts Service.

4 Сущность метода

Метод основан на экстракции определяемых веществ из анализируемой пробы с последующей очисткой гидрофильных фикотоксинов с помощью твердофазной экстракции, гидролизом эфиров окадаиковой кислоты, динофизистоксинов, идентификацией и количественным определением фикотоксинов по площадям пиков реакций «ион-предшественник — ион-продукт» с помощью градуировочной характеристики, полученной при анализе матричных градуировочных растворов методом ВЭЖХ-МС/МС в режиме мониторинга множественных реакций (MRM).

5 Условия выполнения измерений и требования безопасности

5.1 При определении содержания фикотоксинов должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . .от 15 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха . . . . . .от 30 % до 80 %.

Помещения и условия окружающей среды должны быть пригодными для осуществления лабораторной деятельности и не должны оказывать негативное влияние на достоверность получаемых результатов.

5.2 Применяемые в работе реактивы относятся к веществам 1-го и 2-го классов опасности, при работе с ними необходимо соблюдать общие требования безопасности обращения с вредными веществами, установленные ГОСТ 12.1.007. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

5.3 Помещения, в которых проводят анализ и подготовку проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021.

5.4 Приготовление и использование градуировочных растворов проводят в вытяжном шкафу при включенной вентиляции.

5.5 При работе с электроприборами следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.019, пожаровзрывобезопасности — по ГОСТ 12.1.018 и инструкции по эксплуатации приборов.

5.6 К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих высшее образование, прошедших соответствующий инструктаж, владеющих техникой хромато-масс-спектрометрии и руководствующихся требованиями эксплуатации используемых приборов.

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы

6.1 Для определения содержания фикотоксинов применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и посуду:

- весы специального (I) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности взвешивания не более ±0,3 мг;
- весы лабораторные высокого (II) класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности взвешивания не более ±0,03 г;
- жидкостный хроматограф с тандемным масс-спектрометрическим детектором, включающий: жидкостный насос высокого давления, автоматический пробоотборник, термостат колонки, тройной квадрупольный масс-спектрометр с диапазоном измерений от 100 до 1160 а. е. м.;
- компьютер с установленным программным обеспечением для управления масс-спектрометром и обработки результатов измерений;
- колонку хроматографическую* длиной не более 150 мм, диаметром не более 2,1 мм, заполненную обращенно-фазным сорбентом C_{18} с диаметром частиц не более 5,0 мкм;
- колонку хроматографическую** длиной не более 150 мм, диаметром не более 2,1 мм, заполненную силикагелем, модифицированным для гидрофильной хроматографии (HILIC) с диаметром частиц не более 5,0 мкм;
- шейкер вортексного типа вибрационный (вортекс) со скоростью вращения от 0 до 2500 об/мин;
- шейкер переворачивающего типа со скоростью вращения от 20 до 100 об/мин, с адаптерами для пробирок вместимостью 15 и 50 $см^3$;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения не менее 4500 об/мин и диапазоном задаваемых температур от 4 °С до 20 °С, с ротором и адаптерами для пробирок вместимостью 15 и 50 $см^3$;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения не менее 15 000 об/мин и диапазоном задаваемых температур от 4 °С до 20 °С, с угловым ротором и адаптером для микроцентрифужных пробирок вместимостью 2 $см^3$;
- баню ультразвуковую с рабочей частотой не менее 20 кГц и объемом не менее 1 $дм^3$;
- баню водяную лабораторную с диапазоном рабочих температур от 5 °С до 100 °С;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- систему получения деионизированной воды высокой чистоты с удельным сопротивлением 18 МОм · см при температуре 20 °С;
- шкаф сушильный с максимальной температурой нагрева не менее 110 °С и погрешностью поддержания заданной температуры ±5 °С;
- холодильник бытовой с рабочим диапазоном температур от 2 °С до 8 °С;
- камеру лабораторную морозильную с рабочим диапазоном температур от минус 18 °С до минус 25 °С;
- пробы, не содержащие фикотоксины, подготовленные и проанализированные ранее в соответствии с требованиями разделов 8 и 9 («чистые» пробы***);
- пробирки полипропиленовые вместимостью 15 и 50 $см^3$ с навинчиваемыми пластмассовыми крышками;
- пробирки полипропиленовые микроцентрифужные вместимостью 2 $см^3$;
- виалы (флаконы) стеклянные для автосамплера вместимостью 2 $см^3$ с навинчиваемыми крышками и тефлоновыми прокладками диаметром 9 мм;
- картриджи для твердофазной экстракции*4 вместимостью 3 $см^3$, массой сорбента 100 мг;
- фильтры мембранные диаметром не более 25 мм с размером пор не более 0,45 мкм;

---

* Например, типа Pursuit C18. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других колонок с аналогичными характеристиками.

** Например, типа ZIC-HILIC. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других колонок с аналогичными характеристиками.

*** Срок хранения «чистых» проб при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С — не более 6 мес.

*4 Например, картриджи твердофазной экстракции Evolute ABN. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других картриджей с аналогичными характеристиками.

- дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема 0,5—10, 0, 5—50, 10—100, 100—1000, 500—5000 мм^3;
- пипетка 1—2—1—25 по ГОСТ 29227;
- пробирки мерные градуированные П—2—5—14/23, П—2—10—14/23 по ГОСТ 1770;
- колбы П-1—100—29/34 ТС, П—1—1000—45/40 ТС по ГОСТ 25336;
- колбы 1—50(100,1000)—2 по ГОСТ 1770;
- цилиндры 1—100(500,1000)—1 по ГОСТ 1770;
- шприцы полипропиленовые медицинские одноразовые вместимостью 2 см^3 по ГОСТ ISO 7886-1;
- бутыли стеклянные с горловиной под крышку с винтовой резьбой вместимостью 1000 см^3.

6.2 При определении содержания фикотоксинов применяют следующие реактивы:
- ацетонитрил для ВЭЖХ (HPLC);
- аммония гидроксид водный 30 %-ный раствор;
- аммония формиат с содержанием основного вещества не менее 99 %;
- воду деионизированную для ВЭЖХ;
- кислоту муравьиную по ГОСТ 5848, ч. д. а.;
- кислоту соляную по ГОСТ 3118, х. ч.;
- кислоту уксусную ледяную по ГОСТ 61, х. ч.;
- метанол для ВЭЖХ с содержанием основного вещества не менее 99,5 %;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

6.3 При определении содержания фикотоксинов применяют стандартные образцы растворов (в скобках приведены регистрационные номера CAS):
- AZA-1 (214899-21-5) с массовой концентрацией основного вещества 1,1 мкг/см^3;
- AZA-2 (265996-92-7) с массовой концентрацией основного вещества 1,1 мкг/см^3;
- AZA-3 (265996-93-8) с массовой концентрацией основного вещества 1,0 мкг/см^3;
- AZA-4 (344422-49-7) с массовой концентрацией основного вещества 1,2 мкг/см^3;
- AZA-5 (344422-51-1) с массовой концентрацией основного вещества 1,2 мкг/см^3;
- STX (35554-08-6) с массовой концентрацией основного вещества 24,7 мкг/см^3;
- DC-STX (58911-04-09) с массовой концентрацией основного вещества 19,4 мкг/см^3;
- NEOSTX (64296-20-4) с массовой концентрацией основного вещества 20,5 мкг/см^3;
- DC-NEOSTX (68683-58-9) с массовой концентрацией основного вещества 10,1 мкг/см^3;
- смесь растворов GTX-2 (60508-89-6) и GTX-3 (60537-65-7) с массовыми концентрациями основного вещества GTX-2 — 22,2 мкг/см^3 и GTX-3 — 8,2 мкг/см^3;
- GTX-5 (64296-25-9) с массовой концентрацией основного вещества 21,0 мкг/см^3;
- смесь растворов GTX-5 (64296-25-9) и GTX-6 (82810-44-4) с массовыми концентрациями основного вещества GTX-5 — 1,1 мкг/см^3 и GTX-6 — 4,9 мкг/см^3;
- смесь растворов DC-GTX-2 (86996-87-4) и DC-GTX-3 (87038-53-7) с массовыми концентрациями основного вещества DC-GTX-2 — 35,1 мкг/см^3 и DC-GTX-3 — 8,0 мкг/см^3;
- смесь растворов N-SC-GTX-2 (80173-30-4) и N-SC-GTX-3 (80226-62-6) с массовыми концентрациями основного вещества N-SC-GTX-2 — 40,1 и N-SC-GTX-3 — 11,5 мкг/см^3;
- OA (78111-17-8) с массовой концентрацией основного вещества 16,0 мкг/см^3;
- DTX-1 (81720-10-7) с массовой концентрацией основного вещества 6,4 мкг/см^3;
- DTX-2 (139933-46-3) с массовой концентрацией основного вещества 2,0 мкг/см^3;
- PTX-2 (97564-91-5) с массовой концентрацией основного вещества 7,16 мкг/см^3;
- 13-desMeC (334974-07-1) с массовой концентрацией основного вещества 6,3 мкг/см^3;
- 13,19-didesMeC (908118-02-5) с массовой концентрацией основного вещества 11,7 мкг/см^3;
- SPX20G (849215-95-8) с массовой концентрацией основного вещества 7,0 мкг/см^3;
- YTX (112574-50-2) с массовой концентрацией основного вещества 7,4 мкг/см^3;
- hYTX (196309-94-1) с массовой концентрацией основного вещества 6,1 мкг/см^3;
- BTX-2 (79580-28-2) с массовой концентрацией основного вещества 100,0 мкг/см^3;
- DA (14277-97-5) с массовой концентрацией основного вещества 44,5 мкг/см^3.

6.4 Допускается применение других средств измерений и посуды, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также оборудования, реактивов и материалов по качеству не ниже вышеуказанных.

7 Подготовка к проведению измерений

7.1 Подготовка лабораторной посуды и реактивов

7.1.1 Мойку и сушку посуды проводят в отдельном помещении, оборудованном приточно-вытяжной вентиляцией. Для сушки лабораторной посуды и подготовки реактивов необходимо использовать отдельные сушильные шкафы.

7.1.2 Стеклянную посуду подвергают стандартной процедуре очистки лабораторной посуды с последующей последовательной промывкой: однократно смесью спирт этиловый/деионизированная вода в объемном соотношении 1:1, после чего дважды — деионизированной водой.

7.1.3 Рекомендуется на стадиях промывки использовать ультразвуковую баню. Окончательную сушку посуды проводят в сушильном шкафу при температуре от 100 °С до 110 °С.

7.1.4 Каждую новую партию реактивов проверяют на отсутствие контаминации анализируемыми соединениями путем проведения холостого опыта в соответствии с процедурой анализа.

7.2 Приготовление растворов подвижных фаз

7.2.1 Приготовление растворов подвижных фаз $А_1$ и $Б_1$ для определения липофильных фикотоксинов и *DA*

7.2.1.1 Для приготовления подвижной фазы $А_1$ в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ вносят 100 $см^3$ деионизированной воды, 2 $см^3$ муравьиной кислоты, добавляют 0,128 г формиата аммония, перемешивают и доводят объем до метки деионизированной водой. Полученный раствор переносят в стеклянную бутыль.

7.2.1.2 Для приготовления подвижной фазы $Б_1$ в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ вносят 950 $см^3$ ацетонитрила, добавляют 2 $см^3$ муравьиной кислоты и 0,128 г формиата аммония, перемешивают и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный раствор переносят в стеклянную бутыль.

Срок хранения подвижных фаз $А_1$ и $Б_1$ при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 3 мес.

7.2.2 Приготовление растворов подвижных фаз $А_2$ и $Б_2$ для определения гидрофильных фикотоксинов

7.2.2.1 Для приготовления подвижной фазы $А_2$ в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ вносят 100 $см^3$ деионизированной воды, 0,38 $см^3$ муравьиной кислоты, добавляют 0,63 г формиата аммония, перемешивают и доводят объем до метки деионизированной водой. Полученный раствор переносят в стеклянную бутыль.

7.2.2.2 Для приготовления подвижной фазы $Б_2$ в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ вносят 800 $см^3$ ацетонитрила, добавляют 0,5 г формиата аммония, перемешивают и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный раствор переносят в стеклянную бутыль.

Срок хранения подвижных фаз $А_2$ и $Б_2$ при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 3 мес.

7.3 Приготовление вспомогательных растворов

7.3.1 Приготовление раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 2,5 моль/$дм^3$

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ вносят 5,0 г гидроксида натрия, доводят объем до метки деионизированной водой, перемешивают.

Срок хранения при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 1 мес.

7.3.2 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрацией 2,5 моль/$дм^3$

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ вносят около 30 $см^3$ деионизированной воды, осторожно приливают 10,5 $см^3$ соляной кислоты и после охлаждения смеси доводят объем раствора до метки деионизированной водой, перемешивают.

Срок хранения при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 1 мес.

7.3.3 Приготовление смеси метанол-деионизированная вода в объемном соотношении 1:1

В плоскодонную колбу вместимостью 1000 $см^3$ вносят 500 $см^3$ метанола и 500 $см^3$ деионизированной воды, перемешивают.

Срок хранения при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 6 мес.

7.3.4 Приготовление 0,025 %-ного раствора гидроксида аммония

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,093 $см^3$ раствора гидроксида аммония и доводят до метки деионизированной водой.

Срок хранения при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 1 мес.

7.3.5 Приготовление 1 %-ного раствора уксусной кислоты

В плоскодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ уксусной кислоты и 99 $см^3$ деионизированной воды, перемешивают.

Срок хранения при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 1 мес.

7.4 Приготовление рабочих стандартных растворов фикотоксинов

7.4.1 Приготовление рабочих стандартных растворов липофильных фикотоксинов

7.4.1.1 Приготовление рабочего стандартного раствора L1-1 липофильных фикотоксинов AZA-1, AZA-2, AZA-3, AZA-4, AZA-5, BTX-2, YTX, PTX-2, hYTX, 13-desMeC, 13,19-didesMeC, SPX20G

Для приготовления рабочего стандартного раствора L1-1 в мерную пробирку вместимостью 5 $см^3$ вносят аликвоты стандартных образцов липофильных фикотоксинов в количествах, указанных в таблице 1, и доводят объем раствора до метки «5 $см^3$» метанолом.

Таблица 1

Наименование липофильного фикотоксина	Объем аликвоты стандартного раствора липофильного фикотоксина, $мм^3$	Массовая концентрация липофильного фикотоксина, $нг/см^3$
AZA-1	273	60
AZA-2	273	60
AZA-3	300	60
AZA-4	250	60
AZA-5	250	60
BTX-2	30	600
YTX	405	600
PTX-2	417	600
hYTX	492	600
13-desMeC	476	600
13,19-didesMeC	256	600
SPX20G	429	600

7.4.1.2 Приготовление рабочего стандартного раствора L1-2

Для приготовления рабочего стандартного раствора L1-2 в стеклянную виалу вносят 0,1 $см^3$ рабочего стандартного раствора L1-1 и 0,9 $см^3$ метанола, перемешивают.

Срок хранения растворов L1-1 и L1-2 при температуре не выше минус 18 °С — не более 6 мес.

7.4.1.3 Приготовление рабочего стандартного раствора L2-1 липофильных фикотоксинов OA, DTX-1, DTX-2

Для приготовления рабочего стандартного раствора L2-1 в мерную пробирку вместимостью 5 $см^3$ вносят аликвоты стандартных образцов липофильных фикотоксинов в количествах, указанных в таблице 2, и доводят объем раствора до метки «1 $см^3$» метанолом.

Таблица 2

Наименование липофильного фикотоксина	Объем аликвоты стандартного раствора липофильного фикотоксина, $мм^3$	Массовая концентрация липофильного фикотоксина, $нг/см^3$
OA	37	600
DTX-1	94	600
DTX-2	60	120

7.4.1.4 Приготовление рабочего стандартного раствора L2-2 липофильных фикотоксинов OA, DTX-1, DTX-2

Для приготовления рабочего стандартного раствора L2-2 в стеклянную виалу вносят 0,1 $см^3$ рабочего стандартного раствора L2-1 и 0,9 $см^3$ метанола, перемешивают.

Срок хранения растворов L2-1 и L2-2 при температуре не выше минус 18°С — не более 6 мес.

7.4.2 Приготовление рабочих стандартных растворов гидрофильных фикотоксинов

7.4.2.1 Приготовление рабочего стандартного раствора H1 гидрофильных фикотоксинов STX, DC-STX, DC-NEOSTX, NEOSTX, GTX-2, GTX-3, GTX-5, GTX-6, DC-GTX-2, DC-GTX-3, N-SC-GTX-2, N-SC-GTX-3

Для приготовления рабочего стандартного раствора H1 в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$ вносят аликвоты стандартных образцов гидрофильных фикотоксинов в количествах, указанных в таблице 3, и доводят объем раствора до метки «5 $см^3$» 1 %-ным раствором уксусной кислоты, приготовленным по 7.3.5.

Таблица 3

Наименование гидрофильного фикотоксина	Объем аликвоты стандартного раствора гидрофильного фикотоксина, $мм^3$	Массовая концентрация гидрофильного фикотоксина, $нг/см^3$
STX	101	500
NEOSTX	122	500
DC-STX	129	500
DC-NEOSTX	248	500
Смесь растворов GTX-2 GTX-3	113	 500 185
Смесь растворов GTX-5 GTX-6	510	 110 500
GTX-5	92	390
Смесь растворов DC-GTX-2 DC-GTX-3	71	 500 110
Смесь растворов N-SC-GTX-2 N-SC-GTX-3	62	 500 140

Срок хранения раствора H1 при температуре не выше минус 18 °С — не более 12 мес.

7.4.2.2 Приготовление рабочего стандартного раствора D1 домоевой кислоты

Для приготовления рабочего стандартного раствора D1 в мерную пробирку вместимостью 5 $см^3$ вносят 0,224 $см^3$ стандартного образца DA, доводят объем раствора до метки «5 $см^3$» смесью метанол — деионизированная вода, приготовленной по 7.3.3, и перемешивают. Массовая концентрация DA в полученном растворе составляет 2 $мкг/см^3$.

Срок хранения раствора D1 при температуре не выше минус 18 °С — не более 6 мес.

Примечание — В случае отличия фактических концентраций аналитов в приобретенных образцах стандартных растворов от значений, указанных в 6.3, необходимо рассчитать объемы аликвот, необходимые для получения заданных концентраций аналитов в растворах L1-1, L2-1, H1 и D1 по формуле

$$V_1 = \frac{V_2 \cdot C_2}{C_1}, \quad (1)$$

где V_1 — объем аликвоты стандартного раствора, см^3;
V_2 — объем рабочего стандартного раствора, см^3;
C_2 — массовая концентрация аналита в рабочем стандартном растворе, мкг/см^3;
C_1 — массовая концентрация основного вещества в стандартном образце, мкг/см^3.

7.5 Приготовление матричных градуировочных растворов

Матричные градуировочные растворы фикотоксинов готовят в полипропиленовых пробирках вместимостью 15 см^3 из «чистых» проб, подготовленных и проанализированных ранее в соответствии с требованиями разделов 8 и 9, и рабочих стандартных растворов в объемах, указанных в таблицах 4—6.

Таблица 4 — Приготовление матричных градуировочных растворов липофильных фикотоксинов

Обозначение матричного градуировочного раствора	Вносимый объем рабочего стандартного раствора, мм^3				Вносимый объем экстракта «чистой» пробы, мм^3	Массовая концентрация фикотоксина, нг/см^3		
	L1-1	L1-2	L2-1	L2-2		PTX-2, BTX-2, YTX, hYTX, 13-desMeC, 13,19-didesMeC, SPX20G, OA, DTX-1	AZA-1, AZA-2, AZA-3, AZA-4, AZA-5	DTX-2
B	—	—	—	—	600	—	—	—
G1	—	10	—	10	580	1	0,1	0.2
G5	—	50	—	50	500	5	0,5	1
G10	10	—	10	—	580	10	1	2
G20	20	—	20	—	560	20	2	4
G30	30	—	30	—	540	30	3	6
G50	50	—	50	—	500	50	5	10

Таблица 5 — Приготовление матричных градуировочных растворов гидрофильных фикотоксинов

Обозначение матричного градуировочного раствора	Вносимый объем, мм^3		Массовая концентрация фикотоксина, нг/см^3			
	рабочего стандартного раствора H1	экстракта «чистой» пробы	STX, DC-STX, D-NEOSTX, DC-GTX-2, GTX-2, GTX-5, GTX-6, NEOSTX, N-SC-GTX-2	GTX-3	DC-GTX-3	N-SC-GTX-3
B	—	500	—	—	—	—
G5	5	495	5	1,8	1,1	1,4
G10	10	490	10	3,6	2,2	2,8
G50	50	450	50	18	11	14
G100	100	400	100	36	22	28
G200	200	300	200	72	44	56

Таблица 6 — Приготовление матричных градуировочных растворов *DA*

Обозначение матричного градуировочного раствора	Вносимый объем, мм^3			Массовая концентрация DA, нг/см^3
	рабочего стандартного раствора D1	подвижной фазы A_1 (см. 7.2.1.1)	экстракта «чистой» пробы	
—	—	900	100	—
G10	5	895	100	10
G50	25	875	100	50
G100	50	850	100	100
G200	100	800	100	200

7.6 Установление градуировочной характеристики

7.6.1 Установление и расчет градуировочной характеристики проводят в каждой серии анализов с помощью программного обеспечения жидкостного хроматографа с масс-спектрометрическим детектором.

7.6.2 Проводят измерения не менее трех матричных градуировочных растворов, приготовленных по 7.5, в порядке возрастания их концентраций.

Градуировочную характеристику устанавливают в координатах «площадь пика определяемого аналита» — «концентрация определяемого аналита в градуировочном растворе». При построении градуировочной характеристики используют линейную функцию вида $y = a + bx$, при этом квадрат коэффициента корреляции должен быть не менее 0,98.

8 Отбор и подготовка проб

8.1 Отбор и подготовка проб двустворчатых моллюсков

Отбор проб пищевой рыбной продукции — двустворчатых моллюсков — по ГОСТ 31339. Подготовка проб двустворчатых моллюсков — по ГОСТ 7636—85 (пункт 2.9.2).

8.2 Подготовка проб для определения липофильных фикотоксинов

8.2.1 Взвешивают (2,00 ± 0,02) г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 50 см^3, добавляют 9 см^3 метанола, закрывают пробкой и помещают пробирку в шейкер переворачивающего типа для экстракции на 10 мин. Затем центрифугируют со скоростью не менее 4500 об/мин в течение 10 мин при температуре не выше 20 °С.

После центрифугирования надосадочную жидкость переливают в чистую полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см^3, добавляют 9 см^3 метанола. Пробирку с плотно закрытой крышкой помещают в ультразвуковую баню для повторной экстракции на 10 мин, а затем — в шейкер переворачивающего типа на 10 мин. После этого проводят центрифугирование со скоростью не менее 4500 об/мин в течение 10 мин при температуре не выше 20 °С. Полученные экстракты объединяют и доводят объем до 20 см^3 метанолом.

8.2.2 Для определения 13-desMeC, 13,19-didesMeC, SPX20G, AZA-1, AZA-2, AZA-3, AZA-4, AZA-5, BTX-2, PTX-2, YTX, hYTX и свободных OA, DTX-1, DTX-2 метанольный экстракт (см. 8.2.1) объемом 1 см^3 фильтруют через мембранный фильтр в виалу для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

8.2.3 Для определения суммарного содержания OA, DTX-1, DTX-2 проводят гидролиз метанольного экстракта (см. 8.2.1). В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3 приливают 2 см^3 метанольного экстракта (см. 8.2.1), добавляют 0,25 см^3 раствора гидроксида натрия, приготовленного по 7.3.1, перемешивают на вортексе в течение 30 с. Далее пробирку с плотно закрытой крышкой помещают в водяную баню на 40 мин при температуре не менее 76 °С. После гидролиза пробирку охлаждают до комнатной температуры. Затем осторожно приливают 0,25 см^3 раствора соляной кислоты, приготовленного по 7.3.2, для нейтрализации и помещают пробирку на 1 мин в шейкер переворачивающего типа и оставляют на 5 мин при комнатной температуре для уравновешивания. Далее фильтруют 1 см^3 нейтрализованного метанольного экстракта через мембранный фильтр в виалу и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

8.3 Подготовка проб для определения гидрофильных фикотоксинов

8.3.1 Взвешивают (5,00 ± 0,05) г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 50 см^3, добавляют 5 см^3 1 %-ного раствора уксусной кислоты, приготовленного по 7.3.5, закрывают пробкой и помещают пробирку на 5 мин на водяную баню при температуре не ниже 100 °С. Затем пробу охлаждают до комнатной температуры и центрифугируют при 4500 об/мин в течение 15 мин при температуре не выше 20 °С. После центрифугирования надосадочную жидкость переливают в чистую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3.

В пробирку с осадком добавляют 4 см^3 1 %-ного раствора уксусной кислоты, приготовленного по 7.3.5, встряхивают в течение 1 мин в ультразвуковой бане и повторяют процедуру экстракции. Полученные экстракты объединяют и доводят объем до 10 см^3 1 %-ным раствором уксусной кислоты, приготовленным по 7.3.5.

В новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3 отбирают 1 см^3 экстракта, добавляют 3 см^3 ацетонитрила, встряхивают в шейкере переворачивающего типа в течение 5 мин и центрифугируют при 4500 об/мин в течение 10 мин при температуре не выше 4 °С.

8.3.2 Полученный экстракт очищают методом твердофазной экстракции. Перед нанесением экстракта картридж кондиционируют 3 см^3 ацетонитрила и промывают 3 см^3 деионизированной воды. После этого экстракт наносят на картридж, сразу собирая в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3. Очищенный экстракт, при необходимости, фильтруют через мембранный фильтр в виалу и используют для ВЭЖХ-МС/МС-анализа.

8.4 Подготовка проб для определения домоевой кислоты

Взвешивают (1,00 ± 0,01) г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 50 см^3, добавляют 9 см^3 смеси метанола и деионизированной воды, приготовленной по 7.3.3, закрывают пробкой и помещают пробирку в шейкер переворачивающего типа на 10 мин. Затем центрифугируют при 4500 об/мин в течение 10 мин при температуре не выше 4 °С. Надосадочный слой переносят в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см^3. Экстракцию повторяют, экстракты объединяют и доводят объем до 20 см^3 смесью метанола и деионизированной воды, приготовленной по 7.3.3.

100 мм^3 экстракта переносят в пробирку вместимостью 2 см^3, добавляют 900 мм^3 подвижной фазы $А_1$, центрифугируют при 15 000 об/мин в течение 10 мин при температуре не выше 4 °С, при необходимости фильтруют через мембранный фильтр в виалу и используют для ВЭЖХ-МС/МС-анализа.

8.5 Допускается готовить растворы других номинальных объемов при условии соблюдения соотношений между объемами растворов и объемами аликвот или массами навесок реагентов, установленных в настоящем стандарте.

9 Порядок выполнения анализа

9.1 Условия хроматографического разделения

9.1.1 Хромато-масс-спектрометр включают в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают параметры рабочих режимов масс-спектрометрического детектирования и хроматографического разделения.

9.1.2 Условия хроматографического анализа:

- температура колонки — 40 °С;
- температура в отсеке устройства ввода проб — 10 °С;
- объем вводимой пробы — 20 мм^3.

9.1.3 Разделение липофильных фикотоксинов и домоевой кислоты проводят на хроматографической колонке длиной не более 150 мм, диаметром не более 2,1 мм, заполненной обращенно-фазным сорбентом $С_{18}$ с диаметром частиц не более 5,0 мкм. Хроматографические условия для разделения приведены в таблице 7.

Таблица 7

Время, мин	Подвижная фаза $А_1$, %	Подвижная фаза $Б_1$, %	Скорость потока, см^3/мин
0,0	95	5	0,2
1,0	95	5	0,2
23,0	0	100	0,2
25,0	0	100	0,2
25,1	95	5	0,2
34,0	95	5	0,2

9.1.4 Разделение гидрофильных фикотоксинов проводят на хроматографической колонке длиной не более 150 мм, диаметром не более 2,1 мм, заполненной силикагелем, модифицированным для гидрофильной хроматографии (HILIC) с диаметром частиц не более 5,0 мкм. Хроматографические условия для разделения приведены в таблице 8.

Таблица 8

Время, мин	Подвижная фаза $А_2$, %	Подвижная фаза $Б_2$, %	Скорость потока, $см^3$/мин
0,0	20	80	0,25
1,0	20	80	0,25
18,0	35	65	0,25
18,1	20	80	0,25
25,0	20	80	0,25

9.1.5 Общие параметры настройки масс-спектрометрического детектора:

- напряжение на распыляющем капилляре (IS) 4500 В при регистрации положительных ионов (минус 4500 В при регистрации отрицательных ионов);
- температура источника — 450 °С;
- разрешение квадруполей Q1/Q3 — единичное;
- значение вспомогательного газа (CUR) — 25;
- значение газа источника (GS1) — 60;
- значение распыляющего газа (GS2) — 60;
- значение давления в ячейке столкновений (CAD) — 5.

9.1.6 Параметры метода воздействия на ионы в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) приведены в таблицах 9—11.

Таблица 9 — Параметры в режиме MRM при регистрации положительных ионов липофильных фикотоксинов и домоевой кислоты

Аналит	Ион-предшественник, m/z	Ион-продукты, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия соударений, В	Ускоряющее напряжение, В
DA	312,1	266,1	60	22	20
		248,1		23	20
		161,0		30	9
PTX-2	876,4	823,3	60	32	20
		805,3		36	20
BTX-2	895,4	877,3	40	23	23
		859,3		29	23
AZA-1	842,5	824,3	80	43	21
		806,3		53	22
		654,3		69	22
AZA-2	856,5	838,3	80	42	21
		672,3		67	22
		362,2		72	20
AZA-3	828,4	810,3	80	41	21
		658,3		67	20
		362,2		68	21
AZA-4	844,4	826,3	80	41	21
		658,3		67	22

Окончание таблицы 9

Аналит	Ион-предшественник, m/z	Ион-продукты, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия соударений, В	Ускоряющее напряжение, В
AZA-5	844,45	826,3	80	43	22
		656,3		68	22
13-desMeC	692,4	674,3	80	42	27
		444,2		52	27
13,19-didesMeC	678,4	660,3	80	39	27
		430,2		50	27
SPX20G	706,5	688,3	80	40	20
		392,2		43	25

Таблица 10 — Параметры в режиме MRM при регистрации отрицательных (–) ионов липофильных фикотоксинов

Аналит	Ион-предшественник, m/z	Ион-продукты, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия соударений, В	Ускоряющее напряжение, В
OA	803,5	563,2	–60	–58	–15
		255,0		–62	–15
DTX-2	803,51	563,2	–60	–58	–15
		255,0		–62	–15
DTX-1	817,5	255,0	–60	–61	–12
		151,0		–60	–10
YTX	1141,5	1061,3	–30	–46	–13
		855,5		–95	–13
hYTX	1155,5	1075,4	–30	–47	–13
		869,3		–100	–13

Таблица 11 — Параметры в режиме MRM при регистрации положительных ионов гидрофильных фикотоксинов

Аналит	Ион-предшественник, m/z	Ион-продукты, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия соударений, В	Ускоряющее напряжение, В
DC-STX	257,10	239,1	90	23	17
	257,10	126,0	90	27	10
DC-NEOSTX	273,10	126,0	160	29	14
	273,10	225,0	160	29	14
DC-GTX-2	273,00	148,0	115	28	15
	273,00	126,0	115	28	15
DC-GTX-3	353,00	273,0	40	13	16
	353,00	255,0	70	26	16
STX	300,00	221,0	110	25	14
	300,00	204,0	110	32	13

Окончание таблицы 11

Аналит	Ион-предшественник, m/z	Ион-продукты, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия соударений, В	Ускоряющее напряжение, В
GTX-3	396,11	316,1	50	14	16
	396,11	298,1	50	25	16
GTX-2	396,10	220,1	50	40	16
	316,11	298,0	110	26	21
GTX-6	396,30	316,1	30	21	13
	396,30	298,0	30	30	13
	316,10	298,0	30	38	13
NEOSTX	316,12	298,0	110	28	20
	316,10	220,0	110	34	13
GTX-5	380,10	300,0	40	20	17
	380,10	282,1	40	29	16
N-SC-GTX-2	396,25	316,1	105	21	13
	396,30	298,1	105	29	13
	396,00	220,1	105	40	13
N-SC-GTX-3	396,10	298,1	105	29	13
	396,10	316,1	105	21	13

Примечание — Приведенные выше параметры хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования могут отличаться в зависимости от используемого оборудования.

9.2 ВЭЖХ-МС/МС-измерение

9.2.1 Для измерения содержания фикотоксинов проводят ВЭЖХ-МС/МС анализ в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации применяемого оборудования в условиях хроматографических измерений с параметрами, указанными в 9.1.

9.2.2 Анализ выполняют в виде серии измерений, включающей следующие образцы:

- подвижную фазу A_1 или A_2;
- «чистую пробу»;
- матричные градуировочные растворы, приготовленные по 7.5;
- экстракты анализируемых проб, подготовленных по 8.2—8.4.

9.2.3 Определяют и регистрируют на хроматограмме время удерживания пиков сигналов реакций «ион-предшественник» — «ион-продукт» каждого определяемого вещества, соответствующее времени удерживания, найденному при измерении градуировочных растворов, приготовленных по 7.5.

9.2.4 В соответствии с данными, полученными при измерении градуировочных растворов, проводят количественную обработку хроматограмм с использованием программного обеспечения.

9.2.5 Расчеты содержания аналита и площади пика выполняют системой обработки данных в автоматическом режиме, при этом массовую долю фикотоксина X, мкг/кг, вычисляют по формуле

$$X = a \cdot S \cdot d, \quad (2)$$

где a — тангенс угла наклона градуировочной кривой, нг/см^3·ед. площади;

S — площадь пика сигнала определяемого фикотоксина, ед. площади;

d — фактор разведения (отношение объема экстракта к массе пробы), указанный в таблице 12, см^3/ г.

Таблица 12

Фикотоксин	Фактор разведения d, $см^3/г$
PTX-2, BTX-2, YTX, hYTX, 13-desMeC, 13,19-didesMeC, SPX20G, AZA-1, AZA-2, AZA-3, AZA-4, AZA-5	10,0
OA, DTX-1, DTX-2	12,5
DA	200,0
DC-STX, DC-NEOSTX, DC-GTX-2, STX, GTX-2, GTX-5, GTX-6, NEOSTX, N-SC-GTX-2, GTX-3, DC-GTX-3, N-SC-GTX-3	8,0

10 Обработка результатов измерений

10.1 Результаты измерений обрабатывают с помощью программного обеспечения и выдают в виде массовой доли анализируемого вещества. В случае выхода полученного значения за верхнюю границу диапазона измерений допускается разбавление образца путем внесения 1 $см^3$ образца в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$ и доведения объема до 10 $см^3$ соответствующей подвижной фазой A_1 или A_2. Разбавленный образец анализируют повторно.

10.2 За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений массовой доли фикотоксинов в анализируемой пробе, выраженное в микрограммах на килограмм (мкг/кг), если выполняется условие приемлемости:

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r, \qquad (3)$$

где X_1, X_2 — результаты параллельных определений массовой доли фикотоксинов, мкг/кг,

r — значение предела повторяемости, %.

Полученные среднеарифметические значения двух параллельных измерений анализируемой пробы округляют:

- в диапазоне значений от 1,0 до 100,0 мкг/кг включительно — до первого десятичного знака после запятой;
- в диапазоне значений свыше 100 мкг/кг — до целого числа.

10.3 При невыполнении условия (3) измерения повторяют.

11 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений массовой доли фикотоксинов с относительной расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений, указанной в таблице 13, при коэффициенте охвата $k = 2$.

Таблица 13 — Показатели точности метода при определении массовой доли фикотоксинов

Фикотоксин	Диапазон измерений массовой доли, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
OA DTX-1 DTX-2	От 62,5 до 125,0 включ.	40	15	19	42
	Св.125 до 625 включ.	22	7	10	19

Окончание таблицы 13

Фикотоксин	Диапазон измерений массовой доли, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
PTX-2	От 50 до 200 включ.	34	10	16	28
	Св. 200 до 500 вкл.	25	7	10	19
BTX-2	От 100 до 500 включ.	35	10	16	28
13-desMeC13,19-didesMeC SPX20G	от 50 до 200 включ.	35	11	15	30
	Св. 200 до 500 включ.	26	7	12	19
YTX hYTX	От 50 до 200 включ.	45	10	20	28
	Св. 200 до 500 включ.	27	8	12	22
AZA-1 AZA-2 AZA-3 AZA-4 AZA-5	От 1 до 10 включ.	34	12	16	33
	Св. 10 до 50 включ.	21	6	10	17
DA	от 2000 до 40 000 включ.	33	10	15	28
STX DC-STX	От 40 до 400 включ.	31	10	14	28
	Св. 400 до 1600 включ.	25	7	10	19
NEOSTX DC-NEOSTX	От 40 до 400 включ.	34	12	16	33
	Св. 400 до 1600 включ.	27	7	13	19
GTX-2 GTX-3 GTX-5 GTX-6 DC-GTX-2 DC-GTX-3 N-SC-GTX-2 N-SC-GTX-3	От 40 до 400 включ.	46	10	20	28
	Св. 400 до 1600 включ.	27	8	12	22

Примечание — Значения относительной расширенной неопределенности, указанные в таблице, соответствуют границам относительной погрешности результатов измерений при $P = 0,95$.

12 Оформление результатов измерений

Массовую долю i-го фикотоксина, мкг/кг, представляют в виде

$$\bar{X}_i \pm 0,01 \cdot U_i \cdot \bar{X}_i \text{ при } P = 0,95, \quad (4)$$

где $\bar{X}_i$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений содержания i-го фикотоксина в анализируемой пробе, мкг/кг;

U_i — значение относительной расширенной неопределенности содержания i-го фикотоксина для соответствующего диапазона измерений, % (см. таблицу 13);

$0,01 \cdot U_i \cdot \bar{X}_i$ — значение расширенной неопределенности в абсолютных единицах, мкг/кг.

13 Контроль качества результатов измерений

Контроль качества результатов измерений в пределах лаборатории рекомендуется осуществлять по ГОСТ ИСО 5725-6, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункт 6.2.2) и показателя правильности по ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункт 6.2.4).

Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений устанавливают в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ISO/IEC 17025.

Библиография

[1] Технический регламент Евразийского экономического союза ТР ЕАЭС 040/2016 — О безопасности рыбы и рыбной продукции

УДК 639.38:614.31:006.354 МКС 67.120.30

Ключевые слова: продукция пищевая рыбная, двустворчатые моллюски, фикотоксины, метод ВЭЖХ, масс-спектрометрическое детектирование

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 27.08.2021. Подписано в печать 22.09.2021. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,24.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «РСТ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ 34743—2021 Продукция пищевая рыбная. Метод определения фикотоксинов в двустворчатых моллюсках с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Дата введения — 2021—09—02

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения

(ИУС № 1 2022 г.)

gost.e-ecolog.ru