

---

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

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
34108—  
2017

---

**КОРМА, КОМБИКОРМА,  
КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ**

**Определение содержания микотоксинов прямым  
твёрдофазным конкурентным иммуноферментным  
методом**

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2017

## Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по международной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

### Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (АО «ВНИИКП»), Обществом с ограниченной ответственностью «ЗИП-И» (ООО «ЗИП-И»)

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 1 июня 2017 г. № 51)

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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 сентября 2017 г. № 1137-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34108—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

### 5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))*

© Стандартинформ, 2017

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 и определения .....	2
4 Сущность метода .....	2
5 Требования безопасности .....	2
6 Условия проведения испытаний.....	3
7 Требования к квалификации оператора .....	3
8 Отбор проб.....	3
9 Подготовка проб.....	3
10 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы.....	3
11 Подготовка к выполнению испытания .....	5
12 Проведение испытания .....	6
13 Обработка результатов .....	10
14 Оформление результатов испытаний .....	11
15 Контроль точности результатов определений .....	11
16 Протокол испытаний.....	13
Приложение А (рекомендуемое) Приготовление градуировочных растворов микотоксинов .....	14
Приложение Б (рекомендуемое) Схема расположения лунок в планшете .....	18
Приложение В (рекомендуемое) Таблица для записи результатов измерений .....	19

**КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ****Определение содержания микотоксинов прямым твердофазным конкурентным иммуноферментным методом**

Feeds, mixed feeds and raw material.  
Determination of mycotoxins content by direct solid-phase  
competitive immunoenzymatic method

Дата введения — 2019—01—01

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает прямой твердофазный конкурентный иммуноферментный метод (далее ИФА) определения содержания микотоксинов: суммы афлатоксинов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> (по афлатоксину В<sub>1</sub>), афлатоксина В<sub>1</sub>, дезоксиниваленола (далее ДОН), зеараленона, охратоксина А, Т-2 токсина, суммы фумонизинов (по фумонизину В<sub>1</sub>) в кормах, комбикормах и комбикормовом сырье.

Данный метод не распространяется на продукцию минерального происхождения и органического синтеза.

Диапазоны измерений приведены в таблице 4.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты.

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79\* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.2.007.0—75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

ГОСТ ИСО 5725-1—2003\* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения.

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

ГОСТ ISO 6498—2014 Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995—77 Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13496.0—2016 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 13586.3—83 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 13979.0—86 Жмыхи, шроты и горчичный порошок. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 16317—87 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 21669—76\*\*\* Комбикорма. Термины и определения

ГОСТ 28311—89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 29169—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой.

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные.

Часть 1. Общие требования

**Примечание** — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Термины и определения

3.1 В настоящем стандарте применены термины и определения по ГОСТ 21669, ГОСТ ISO 6498, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **тест-система:** Набор (комплект) специально подобранных реактивов и составных частей, предназначенных для определения одного или нескольких конкретных веществ.

3.1.2 **основной раствор:** Раствор реактива, приготавливаемый заблаговременно и необходимый для приготовления других растворов.

### 4 Сущность метода

Прямой твердофазный конкурентный ИФА основан на способности микотоксинов взаимодействовать со специфичными антителами (далее АТ), нанесенными на поверхность ячеек планшета (иммобилизованными). В лунки планшета с иммобилизованными АТ дозируют смешанные с конъюгатом экстракты проб и градуировочные растворы, после инкубации и отмывки носителя от несвязавшихся компонентов вносят субстрат, в результате образуются окрашенные комплексы. После добавления останавливающего реактива регистрируют значение оптической плотности, которое находится в обратной зависимости от массовой концентрации микотоксина в экстракте.

### 5 Требования безопасности

5.1 При выполнении испытаний необходимо соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе

\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения».

\*\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

\*\*\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 51848—2001 «Продукция комбикормовая. Термины и определения».

с электроприборами по ГОСТ 12.1.019 и ГОСТ 12.2.007.0, требования, изложенные в технической документации на используемые приборы.

5.2 Работа с химическими реактивами должна проводиться в вытяжном шкафу.

5.3 Помещение должно быть оснащено вентиляционными системами по ГОСТ 12.4.021, соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

5.4 Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

5.5 При работе с метанолом необходимо применять средства индивидуальной защиты (перчатки и очки) от попадания препарата на кожные покровы и слизистые оболочки, а также соблюдать правила личной гигиены. При попадании метанола на кожу или слизистые оболочки необходимо немедленно их промыть большим количеством воды.

Работы с метанолом проводят в вытяжном шкафу при непрерывно действующей приточно-вытяжной вентиляции. Все работы с метанолом следует проводить вдали от огня.

5.6 Останавливающий раствор тест-системы содержит серную кислоту, при работе с ним необходимо использовать средства индивидуальной защиты (перчатки и очки) (см. 12.2). При попадании на кожу или слизистые оболочки останавливающего раствора необходимо немедленно их промыть большим количеством воды.

## 6 Условия проведения испытаний

При подготовке и проведении испытаний должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды ..... от 18 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха ..... не более 80 % при 25 °С;
- напряжение в сети ..... (220 ± 10) В.

## 7 Требования к квалификации оператора

К проведению работ по данной методике допускаются лица, имеющие высшее специальное или среднее специальное образование, прошедшие обучение приемам работы на оборудовании, освоившие выполнение всех операций, предусмотренных методикой, владеющие техникой выполнения ИФА и уложившиеся в нормативы оперативного контроля при выполнении испытаний.

## 8 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 13979.0 или другим нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

## 9 Подготовка проб

Подготовка проб — по ГОСТ ISO 6498 со следующим дополнением.

Анализируемую пробу измельчают таким образом, чтобы 75 % размола проходило через сито с размером стороны ячейки 0,85 мм, после чего тщательно перемешивают.

## 10 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

10.1 Применяемые при определении массовой доли микотоксинов средства измерений, программное обеспечение, вспомогательные устройства должны иметь свидетельства о поверке, свидетельства об аттестации, сертификаты градуировки, оформленные в соответствии с требованиями нормативных правовых актов в области обеспечения единства измерений, действующих на территории государства, принявшего стандарт.

10.2 Фотометры лабораторные медицинские или фотометры для микропланшетов автоматические, позволяющие проводить измерение оптической плотности растворов, находящихся в луночных планшетах, лунках стрипа или стандартных круглых кюветках 12 мм, в диапазоне длин волн 400—650 нм.

10.3 Тест-система для прямого твердофазного конкурентного ИФА, в состав которой входят:

- планшет разборный микролуночный полистироловый без АТ для смешивания реагентов (12 или 6 стрипов голубого или зеленого цвета по 8 лунок);
- планшет разборный с микролунками с иммобилизованными АТ (12 или 6 безцветных стрипов по 8 лунок), упакованный в фольгированный пакет с замком;
- флакон с раствором конъюгата;
- флакон с останавливающим раствором;
- флакон с раствором субстрата;
- флакон с буферным раствором;
- флакон с промывочным раствором;
- градуировочные растворы, содержащие микотоксины разной концентрации для градуировки тест-системы.

П р и м е ч а н и е — Допускается вместо градуировочных растворов, входящих в состав тест-системы, использовать градуировочные растворы микотоксинов, приготовленные в соответствии с приложением А из стандартных образцов и образца сравнения:

- состава раствора афлатоксина В<sub>1</sub> (бензол-ацетонитрил) массовой концентрации 10 мкг/см<sup>3</sup>;
- состава раствора ДОН (ацетонитрил) массовой концентрации 20 мкг/см<sup>3</sup>;
- состава раствора звараленона (бензол) массовой концентрации 20 мкг/см<sup>3</sup>;
- состава раствора ократоксина (бензол-уксусная кислота) массовой концентрации 50 мкг/см<sup>3</sup>;
- состава раствора Т-2 токсина (бензол) массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>;
- фузонизин В<sub>1</sub> с содержанием основного вещества не менее 98 %.

Срок и условия хранения всех реактивов, входящих в комплект тест-системы, устанавливает ее изготовитель. Не допускается замораживание реагентов.

Неиспользованные стрипы (лунки) хранят упакованными в плотно закрытом оригинальном фольгированном пакете вместе с имеющимся в нем осушителем в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С.

10.4 Мельница лабораторная со скоростью вращения не менее 3000 об/мин, измельчающая продукт до размера частиц не более 0,85 мм.

10.5 Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ± 0,001 г и весы с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,02 мг.

10.6 Шкаф сушильный электрический вентилируемый, обеспечивающий поддержание температуры (130 ± 5) °С.

10.7 Холодильник бытовой по ГОСТ 16317, позволяющий поддерживать температуру от 2 °С до 8 °С в холодильной камере.

10.8 Компьютер с программным обеспечением для обработки результатов или калькулятор, или другое вычислительное устройство с логарифмической функцией.

10.9 Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема 10—100 мм<sup>3</sup>, 100—1000 мм<sup>3</sup>, 1—5 см<sup>3</sup> и восьмиканальные переменного объема 30—300 мм<sup>3</sup> с метрологическими характеристиками по ГОСТ 28311 в комплекте с одноразовыми наконечниками.

10.10 Устройство для смешивания, отвечающее следующим требованиям: траектория встряхивания — орбитальная; диаметр орбиты — не менее 4,0 мм; диапазон частоты вращения 800 об/мин.

10.11 рН-метр или иономер с диапазоном измерений активности водородных ионов от 0 до 14 ед. рН и пределом допускаемой абсолютной погрешности измерения не более 0,05 ед. рН.

10.12 Секундомер с пределом допускаемой основной абсолютной погрешности измерения в режиме секундомера не менее  $\Delta = \pm(9,6 \cdot 10^{-6} T_x + 0,01)$  с дискретностью времени не менее 0,01 и с диапазоном измерений интервалов времени от 0 до 9 ч 59 мин 59,99 с.

10.13 Колбы мерные 2-25(50, 100, 500, 1000)-2 по ГОСТ 1770.

10.14 Пипетки 1(2)-1(1а, 2, 2а)-2-1(2, 5, 10, 25) по ГОСТ 29227 или пипетки 1-2-1, 1-2-5, 1-2-10 по ГОСТ 29169.

10.15 Цилиндры мерные 1(2)-25(50, 100, 250, 1000) по ГОСТ 1770.

10.16 Колбы конические Кн-2-100(250, 500, 1000)-29/32(34/35) ТХС по ГОСТ 25336.

10.17 Воронки В-56(75)-80(110) ХС по ГОСТ 25336.

10.18 Стаканы Н-1-100(150) по ГОСТ 25336.

10.19 Бумага фильтровальная лабораторная марки ФС по ГОСТ 12026 или фильтры бумажные «красная лента».

10.20 Метанол-яд по ГОСТ 6995, х. ч.



10.21 Стандартные образцы кормов, комбикормов или комбикормового сырья с аттестованным содержанием микотоксинов для контроля правильности результатов.

10.22 Пластиковые емкости для хранения растворов.

10.23 Вials вместимостью 5—10 см<sup>3</sup> для разбавления экстрактов.

10.24 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

10.25 Сито с размером ячеек не более 0,85 мм.

#### Примечания

1 Рекомендуется для увеличения производительности и повышения точности измерений использование следующего оборудования:

- инкубатор для планшетов, обеспечивающий поддержание температуры от 20 °С до 25 °С с точностью не более  $\pm 1$  °С;

- устройство отмывки планшетов автоматическое с диапазоном объемов моющего раствора, заливаемого в каждую лунку от 100 до 350 мм<sup>3</sup>.

2 Допускается использование других средств измерений с метрологическими характеристиками не хуже указанных.

3 Допускается использование реактивов аналогичной или более высокой квалификации по качеству.

## 11 Подготовка к выполнению испытания

### 11.1 Подготовка лабораторной посуды

Лабораторную стеклянную посуду моют специальными моющими средствами, например раствором гипохлорита, многократно промывают водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

Запрещается:

- многократное использование одноразовой лабораторной посуды;

- использование бытовых моющих средств для мойки лабораторной посуды.

### 11.2 Подготовка прибора к работе

Подготовку спектрофотометра проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническим описанием.

### 11.3 Общие требования по работе с тест-системами

Перед использованием все составляющие тест-системы выдерживают при температуре от 18 °С до 25 °С не менее 30 мин.

Не допускается попадание прямых солнечных лучей на планшет и растворы, входящие в комплект тест-системы.

Рекомендуется помещать под планшет теплоизоляционный материал, например сложенное в несколько слоев бумажное полотенце, с целью устранения воздействия холодной поверхности стола.

Следует избегать воздействия на планшет сильных естественных или искусственных потоков воздуха, вызванных, например, принудительной вентиляцией.

Во время проведения испытаний при работе с субстратом следует избегать воздействия на него прямых солнечных лучей, т.к. он разлагается на свету.

Перед использованием жидкие реактивы перемешивают путем осторожного вращения или переворачивания флаконов. Не допускается переливать обратно в оригинальные флаконы остатки реагентов, используемых при проведении измерений.

Не допускается использование реактивов после истечения срока хранения. При выполнении измерений необходимо придерживаться определенного (указанного в методике) времени инкубации. Изменение времени инкубации может привести к неправильным результатам.

Рекомендуется использовать восьмиканальный пипеточный дозатор. В этом случае допускается проведение анализа не более 48 экстрактов и градуировочных растворов в сумме (6 стрипов микролунок). При использовании одноканального дозатора допускается анализировать не более 16 экстрактов и градуировочных растворов в сумме (2 стрипа микролунок) в одной постановке.

Для каждого раствора предназначена отдельная лунка. Размечают координаты в планшете для внесения растворов и разбавленных экстрактов. Схема расположения лунок в планшете приведена в приложении Б.



## 11.4 Приготовление растворов

### 11.4.1 Приготовление водного раствора метанола объемной долей 70 % (раствора А)

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 70 см<sup>3</sup> метанола, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Срок хранения раствора в плотно закрытой емкости при комнатной температуре — не более 3 мес.

### 11.4.2 Приготовление промывочного раствора для определения содержания ДОН

В мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> помещают около 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и количественно переносят весь объем концентрированного промывочного раствора из комплекта реактивов к тест-системе. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Приготовленный промывочный раствор переносят в пластиковую емкость.

Раствор хранят при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего времени использования тест-системы.

### 11.4.3 Приготовление градуировочных растворов микотоксинов

Для построения градуировочной характеристики каждого микотоксина используют входящие в соответствующий набор тест-системы пять градуировочных растворов различной концентрации: один раствор, не содержащий микотоксин (далее нулевая точка) и четыре градуировочных раствора различной концентрации микотоксина. Содержание микотоксинов в градуировочных растворах приведено в таблице А.1 (см. приложение А).

Значения содержания микотоксинов, приписанные градуировочным растворам тест-системы, учитывают коэффициенты, включающие отношение навески к объему экстрагента, разбавления фильтра и выражены в миллиграммах в килограмме.

Допускается готовить градуировочные растворы из стандартных образцов микотоксинов в соответствии с А.2—А.7 (см. приложение А).

Срок хранения градуировочных растворов микотоксинов при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 1 мес.

## 12 Проведение испытания

### 12.1 Приготовление экстрактов микотоксинов

Взвешивают анализируемую пробу массой около 20 г, с записью результата до второго десятичного знака, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup>, добавляют 100 см<sup>3</sup> экстрагента (см. таблицу 1). Закрывают пробкой и перемешивают в течение 30 мин на устройстве для смешивания. Полученный раствор фильтруют через бумажный складчатый фильтр.

#### Примечания:

1 При экстракции необходимо соблюдать соотношение массы анализируемой пробы к объему растворителя 1 : 5.

2 Допускается использование ультразвуковой обработки (мощность генератора 35 Вт, рабочая частота 22 кГц) в ультразвуковой бане в течение 30 мин или проведение экстракции в блендере в течение 3 мин с высокой скоростью.

3 Экстракт должен иметь значение pH в интервале 6—8 единиц pH. Излишняя щелочность или кислотность экстракта может повлиять на результаты анализа, поэтому ее необходимо корректировать. Увеличить значение pH раствора можно добавлением в него 1 М раствора гидроксида калия (KOH), уменьшить значение pH можно добавлением 1 М растворов азотной кислоты (HNO<sub>3</sub>), серной кислоты (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) или ортофосфорной кислоты (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>).

Таблица 1

Наименование микотоксина	Экстрагент	Коэффициент разбавления, $f_1$
Афлатоксин В <sub>1</sub>	Раствор А (см. 11.4.1)	2
Сумма афлатоксинов	Раствор А (см. 11.4.1)	1
ДОН	Дистиллированная вода	4
Зеараленон	Раствор А (см. 11.4.1)	5
Охратоксин А	Раствор А (см. 11.4.1)	1
T-2 токсин	Раствор А (см. 11.4.1)	1
Сумма фумонизинов	Раствор А (см. 11.4.1)	20

Фильтрат для определения содержания суммы афлатоксинов, охратоксина А, Т-2 токсина используют для дальнейшего проведения испытания по 12.2.

Фильтрат для определения содержания афлатоксина В<sub>1</sub> разбавляют буферным раствором в соответствии с таблицей 1 и далее используют для дальнейшего проведения испытания по 12.2. Разбавление экстракта для определения содержания афлатоксина В<sub>1</sub> проводят следующим образом: в виалу дозатором помещают 1 см<sup>3</sup> буферного раствора, вносят 1 см<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

Фильтрат для определения содержания ДОН, зеараленона, суммы фумонизинов разбавляют экстрагентом в соответствии с таблицей 1 и далее используют для дальнейшего проведения испытания по 12.2.

Разбавление экстракта для определения содержания ДОН проводят следующим образом: в виалу дозатором помещают 3 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, вносят 1 см<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

Разбавление экстракта для определения содержания зеараленона проводят следующим образом: в виалу дозатором помещают 4 см<sup>3</sup> раствора А, вносят 1 см<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

Разбавление экстракта для определения содержания суммы фумонизинов проводят следующим образом: в виалу дозатором помещают 1,9 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, вносят 0,1 см<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

## 12.2 Проведение градуировки и анализа экстрактов проб

Анализ градуировочных растворов и экстрактов проб проводят одновременно. В рамку первого планшета помещают необходимое количество стрипов зеленого (голубого) цвета для смешивания реактивов. В рамку второго планшета помещают такое же количество бесцветных стрипов с иммобилизованными АТ.

**Примечание** — Допускается помещать стрипы для смешивания реактивов и стрипы с иммобилизованными АТ в один планшет, при этом после смешивания реактивов и переноса растворов стрипы для смешивания удаляют из планшета.

Отмеряют необходимое количество раствора конъюгата из комплекта реактивов к тест-системе (примерно 240 мм<sup>3</sup> на лунку или 2 см<sup>3</sup> на стрип) и помещают в отдельную емкость (или в специальную ювету при использовании восьмиканального пипеточного дозатора). Используя восьмиканальный дозатор, осторожно, не касаясь лунок, вносят по 200 мм<sup>3</sup> раствора конъюгата в каждую лунку стрипов зеленого (голубого) цвета первого планшета. В остальные лунки первого планшета одноканальным дозатором вносят по 100 мм<sup>3</sup> каждого градуировочного раствора или экстракта пробы, используя для каждого раствора новый наконечник.

**Примечание** — Допускается уменьшать объем растворов, но при этом отношение объема конъюгата к объему экстракта (градуировочного раствора) должно быть 2 : 1. Объем жидкости, переносимый из лунок для смешивания в лунки с антителами, должен быть одинаковым (100 мм<sup>3</sup>).

Восьмиканальным дозатором с новыми наконечниками трижды смешивают содержимое лунок пипетированием (набирают и выпускают раствор) и быстро переносят по 100 мм<sup>3</sup> содержимого каждой лунки стрипа зеленого (голубого) цвета в соответствующую ей лунку бесцветного стрипа второго планшета. Инкубируют в течение времени, указанного в таблице 2.

**Примечание** — Необходимо избегать встряхивания планшета с антителами, поскольку это может привести к разрушению цепки между антигеном и антителом или к смешиванию содержимого разных лунок.

Таблица 2

Наименование микотоксина	Разбавляющий раствор	Время инкубации с раствором конъюгата, мин	Время инкубации с раствором субстрата, мин	Промывочный раствор	Длина волны, нм
Афлатоксин В <sub>1</sub>	Раствор А (см. 12.4.1)	10	10	Дистиллированная вода	450 <sup>+</sup>
Сумма афлатоксинов	Раствор А (см. 12.4.1)	15	5	Дистиллированная вода	450

Окончание таблицы 2

Наименование микотоксина	Разбавляющий раствор	Время инкубации с раствором конъюгата, мин	Время инкубации с раствором субстрата, мин	Промывочный раствор	Длина волны, нм
ДОН	Дистиллированная вода	15	5	Промывочный раствор по 12.4.2	450
Зеараленон	Раствор А (см. 12.4.1)	10	10	Дистиллированная вода	450*
Охратоксин А	Раствор А (см. 12.4.1)	10	5	Дистиллированная вода	450*
Т-2 токсин	Раствор А (см. 12.4.1)	10	5	Дистиллированная вода	450*
Сумма фумонизинов	Раствор А (см. 12.4.1)	10	5	Дистиллированная вода	450
* Допускается использование дифференциального фильтра на 630 нм					

Удаляют содержимое лунок, промывают лунки промывочным раствором (см. таблицу 2). Процедуру промывки планшета рекомендуется проводить с помощью устройства для отмытки планшетов, задавая следующие параметры программы: количество циклов промывки — от трех до четырех, объем заливаемого промывочного раствора — 300 мм<sup>3</sup>. Допускается ручная промывка с использованием многоканального дозатора. При этом в лунки планшета вносят 4 раза по 300 мм<sup>3</sup> промывочного раствора с последующим резким переворачиванием и встряхиванием планшета.

Планшет переворачивают лунками вниз на фильтровальную бумагу и окончательно удаляют из лунок остатки промывочного раствора легким постукиванием.

Отмеряют необходимое количество раствора субстрата из комплекта реактивов к тест-системе (примерно 120 мм<sup>3</sup> на лунку или 1 см<sup>3</sup> на стрип) и помещают в отдельную емкость. Используя восьмиканальный дозатор, вносят по 100 мм<sup>3</sup> раствора субстрата в каждую лунку. Инкубируют в течение времени, указанного в таблице 2.

Отмеряют необходимое количество останавливающего раствора из комплекта реактивов к тест-системе (примерно 120 мм<sup>3</sup> на лунку или 1 см<sup>3</sup> на стрип) и помещают в отдельную емкость. Используя восьмиканальный дозатор, вносят по 100 мм<sup>3</sup> останавливающего раствора в каждую лунку. Цвет раствора изменяется с голубого на желтый.

Измеряют оптическую плотность  $D$  содержимого лунок при длине волны, указанной в таблице 2. Значения оптической плотности записывают с точностью до второго десятичного знака и заносят в форму для записи (см. приложение В).

**П р и м е ч а н и е** — Перед фотометрией нужно избавиться от воздушных пузырьков в лунке, поскольку они могут повлиять на результат анализа.

### 12.3 Построение и оценка градуировочной характеристики

На основании полученных значений оптической плотности с помощью специального программного обеспечения рассчитывают массовую концентрацию микотоксина в экстракте пробы.

**П р и м е ч а н и е** — Если в инструкции к тест-системе концентрация градуировочных растворов микотоксинов пересчитана на массу навески с учетом всех разведений, то программа рассчитывает содержание микотоксина в анализируемой пробе. В этом случае в приведенных ниже расчетах вместо массовой концентрации микотоксина в градуировочном растворе используют содержание микотоксина.

При отсутствии специального программного обеспечения построение градуировочного графика проводят с помощью программы Excel.

Вычисляют логарифм массовой концентрации (содержание) микотоксина  $LgC_{rp}$  каждого градуировочного раствора. Полученные значения являются координатами точек градуировочной характеристики по оси  $X$ .

Определяют процент связывания микотоксина для каждого градуировочного раствора относительно нулевой точки по формуле

$$\frac{D_{rp}}{D_0} \cdot 100, \quad (1)$$

где  $D_{rp}$  — измеренное значение оптической плотности для  $i$ -го градуировочного раствора;  
 $D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;  
 100 — коэффициент перевода в проценты.

Для каждого градуировочного раствора определяют

$$\lg it \frac{D_{rp}}{D_0} = \lg \left( \frac{D_{rp}/D_0}{1 - D_{rp}/D_0} \right), \quad (2)$$

где  $D_{rp}$  — измеренное значение оптической плотности для  $i$ -го градуировочного раствора;  
 $D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки.

Полученные значения являются координатами точек градуировочной характеристики по оси  $Y$ .

По значениям  $X_i$  и  $Y_i$  строят градуировочную характеристику, пример которой представлен на рисунке 1.

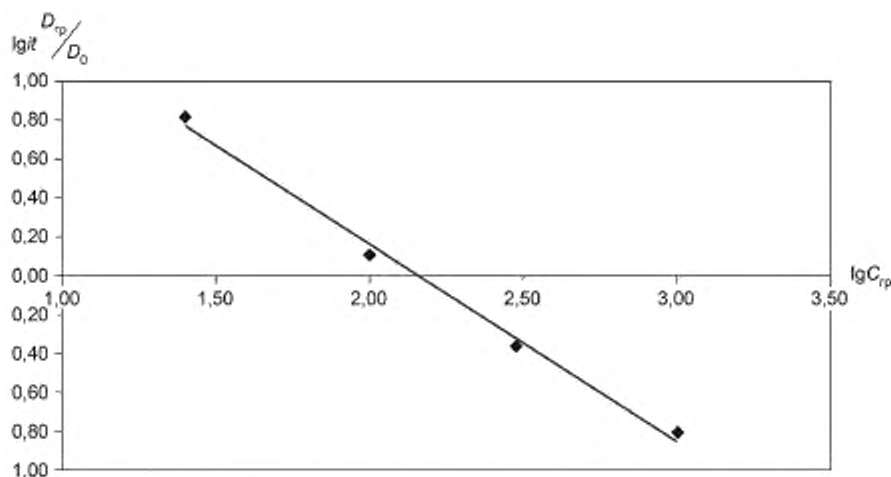


Рисунок 1 — Пример градуировочной характеристики

Полученная градуировочная характеристика описывается уравнением

$$\lg it \frac{D_i}{D_0} = a \lg C_i + b, \quad (3)$$

где  $D_i$  — измеренное значение оптической плотности для  $i$ -го раствора;  
 $D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;  
 $C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина  $i$ -го раствора, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);  
 $a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.

Для контроля градуировочной характеристики используют  $i$ -й градуировочный раствор. По градуировочной характеристике вычисляют массовую концентрацию (содержание)  $C_{i, \text{изм}}$  микотоксина в  $i$ -м градуировочном растворе, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг)

$$C_{i, \text{изм}} = 10^{\left( \frac{\lg it \frac{D_i}{D_0} - b}{a} \right)}, \quad (4)$$

где  $D_i$  — измеренное значение оптической плотности для  $i$ -го раствора;

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;  
 $C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина  $i$ -го раствора, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг),  
 $a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.  
 Градуировочную характеристику признают стабильной, если выполняется условие

$$\frac{|C_{i, \text{изм}} - C_i|}{C_i} \cdot 100 \leq g_1, \quad (5)$$

где  $C_{i, \text{изм}}$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина в  $i$ -м градуировочном растворе, вычисленная по формуле (4), мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);  
 $C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина в  $i$ -м градуировочном растворе, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);  
 $g_1$  — норматив контроля при доверительной вероятности  $P = 0,95$  (см. таблицу 3).

Таблица 3

В процентах

Наименование микотоксина	Норматив контроля	
	$g_1$	$g_2$
Афлатоксин В <sub>1</sub>	10	—
Сумма афлатоксинов	10	—
ДОН	12	—
Зеараленон	10	—
Охратоксин А	18	97
Т-2 токсин	11	—
Сумма фумонизинов	10	95

### 13 Обработка результатов

13.1 Если концентрация градуировочных растворов микотоксинов тест-системы пересчитана на массу навески с учетом всех разведений, то содержание микотоксина  $X_1$ , мг/кг (млн<sup>-1</sup>), в пробе вычисляют по формуле

$$X_1 = 10^a \left( \frac{D_{\text{пр}} - D_0}{a} - \frac{b}{a} \right), \quad (6)$$

где  $D_{\text{пр}}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;  
 $D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;  
 $a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.

13.2 Вычисляют массовую концентрацию микотоксина в экстракте пробы  $C_{\text{пр}}$ , мг/дм<sup>3</sup>, по формуле

$$C_{\text{пр}} = 10^a \left( \frac{D_{\text{пр}} - D_0}{a} - \frac{b}{a} \right), \quad (7)$$

где  $D_{\text{пр}}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;  
 $D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;  
 $a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.

Если массовая концентрация микотоксина в экстракте превышает верхнюю границу диапазона массовых концентраций градуировочных растворов, то допускается дополнительное разбавление экстракта ( $f_2$ ) таким образом, чтобы концентрация микотоксина соответствовала диапазону массовых концентраций градуировочных растворов.

Содержание микотоксина в пробе  $X_2$ , мг/кг (млн<sup>-1</sup>), вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{C_{\text{пр}} V f_1 f_2}{m}, \quad (8)$$

где  $C_{\text{пр}}$  — массовая концентрация микотоксина в экстракте пробы, вычисленная по формуле (6), мг/дм<sup>3</sup>;

$V$  — объем экстрагента (см. 12.1), см<sup>3</sup>;  
 $f_1$  — коэффициент разбавления (см. таблицу 1);  
 $f_2$  — коэффициент дополнительного разбавления;  
 $m$  — масса навески, г.

## 14 Оформление результатов испытаний

За результат определения содержания микотоксина в пробе принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, для которых выполняется условие приемлемости (см. 15.1).

Результат определения содержания микотоксина в пробе, вычисленный по формулам (7) или (8), представляют в виде  $(X \pm U)$ , мг/кг (млн<sup>-1</sup>), при этом  $U$  — показатель точности измерений (расширенная неопределенность с коэффициентом охвата 2). Значение  $U$  рассчитывается по формуле

$$U = 0,01 \cdot \bar{X} U^0, \quad (9)$$

где 0,01 — коэффициент пересчета;

$\bar{X}$  — среднеарифметическое значение содержания микотоксина для двух параллельных определений, вычисленных по формуле (6) или (8), %;

$U^0$  — относительная расширенная неопределенность с  $k = 2$ , значение  $U^0$  приведено в таблице 4, %.

Допускается представление результатов в микрограммах в килограмме.

Числовое значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение расширенной неопределенности в абсолютных единицах, содержащее не более двух значащих цифр.

Показатели точности, повторяемости и прецизионности метода представлены в таблице 4.

Таблица 4

Наименование микотоксина	Диапазон измерений, мг/кг (млн <sup>-1</sup> )	Относительная расширенная неопределенность при $k = 2$ , $U^0$ , %	Относительное стандартное отклонение повторяемости $\sigma_r$ , %	Относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности (время, оператор) $\sigma_{(ТО)}$ , %	Предел повторяемости $r_{отн}$ , %	Предел промежуточной прецизионности $R_{(ТО)}$ , %
Афлатоксин В <sub>1</sub>	0,002—0,050	40	5,6	18	15	50
Сумма афлатоксинов (по афлатоксину В <sub>1</sub> )	0,004—0,040	40	15	18	41	50
ДОН	0,250—5,000	30	10	13	27	36
Зеараленон	0,025—1,000	35	6	14	16	40
Охратоксин А	0,002—0,040	30	11	—	30	—
Т-2	0,020—0,500	40	8	18	23	50
Сумма фумонизинов (по фумонизину В <sub>1</sub> )	0,250—5,000	30	10	13	27	36

## 15 Контроль точности результатов определений

### 15.1 Контроль повторяемости результатов определений

Рекомендуется для каждой пробы проводить два параллельных испытания в условиях повторяемости. Если количество испытуемых проб больше 20, то допускается проведение параллельных испытаний для каждой двадцатой анализируемой пробы.

Расхождение между результатами двух параллельных испытаний  $X_1$  и  $X_2$ , мг/кг (млн<sup>-1</sup>), полученными в одной лаборатории в условиях повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-1 (подраздел 3.14), должно соответствовать условию

$$\frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \cdot 100 \leq r_{отн}, \quad (10)$$



где  $\bar{X}$  — среднееарифметическое значение результатов определения содержания микотоксина, вычисленных по формуле (6) или (8), мг/кг (млн<sup>-1</sup>);

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

$r_{отн}$  — предел повторяемости при доверительной вероятности  $P = 0,95$  (см. таблицу 4).

Если это условие не соблюдается, то используют методы проверки приемлемости результатов параллельных определений и установления окончательного результата согласно ГОСТ ИСО 5725-6 (раздел 5).

### 15.2 Контроль промежуточной прецизионности

Расхождение между результатами двух испытаний  $X_{1(ТО)}$  и  $X_{2(ТО)}$ , мг/кг (млн<sup>-1</sup>), полученными в условиях промежуточной прецизионности (варьируемые факторы: время, оператор) на идентичной пробе, должно соответствовать условию

$$\frac{|X_{1(ТО)} - X_{2(ТО)}|}{\bar{X}_{(ТО)}} \cdot 100 \leq R_{(ТО)}, \quad (11)$$

где  $\bar{X}$  — среднееарифметическое значение результатов определения содержания микотоксина ( $X_{1(ТО)}$  и  $X_{2(ТО)}$ ), мг/кг (млн<sup>-1</sup>);

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

$R_{(ТО)}$  — предел промежуточной прецизионности при доверительной вероятности  $P = 0,95$  (см. таблицу 4).

### 15.3 Контроль правильности определения

Периодичность контроля показателя правильности измерений определяется планом внутрилабораторного контроля.

Контроль проводят с использованием стандартных образцов с известным содержанием микотоксина. Значение аттестованной характеристики должно находиться в диапазоне измерений, предусмотренном настоящим стандартом.

Результат считают удовлетворительным, если выполняется условие

$$\frac{|\bar{X} - X_{амм}|}{X_{амм}} \cdot 100 \leq 0,7 \cdot U^0, \quad (12)$$

где  $\bar{X}$  — среднееарифметическое значение двух параллельных определений содержания микотоксина в стандартном образце, мг/кг (млн<sup>-1</sup>);

$X_{амм}$  — аттестованное значение содержания микотоксина в стандартном образце с известным содержанием микотоксинов (см. 10.21), мг/кг (млн<sup>-1</sup>);

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

0,7 — поправочный коэффициент, определяемый принятой доверительной вероятностью  $P = 0,90$ ;

$U^0$  — относительная расширенная неопределенность с  $k = 2$ , значение приведено в таблице 4, %.

При превышении норматива испытания повторяют. При повторном получении отрицательного результата выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и устраняют их.

### 15.4 Контроль полноты экстракции

Контроль полноты экстракции проводят при внедрении методики, смене оборудования для экстракции или согласно плану внутрилабораторного контроля.

Контроль проводят с использованием анализируемой пробы с содержанием фумонизина в диапазоне от 1,0 до 5,0 мг/кг (млн<sup>-1</sup>), охратоксина А от 0,010 до 0,040 мг/кг (млн<sup>-1</sup>).

При проведении контроля проводится повторная экстракция навески анализируемой пробы с последующим анализом в соответствии с разделом 13.

Результат контроля признается удовлетворительным, если выполняется условие

$$\frac{X_{1экстр} - X_{2экстр}}{X_{1экстр}} \cdot 100 \geq g_2, \quad (13)$$

где  $X_{1экстр}$  — содержание микотоксина в анализируемой пробе, мг/кг (млн<sup>-1</sup>);

$X_{2экстр}$  — содержание микотоксина в анализируемой пробе при повторной экстракции, мг/кг (млн<sup>-1</sup>);

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

$g_2$  — норматив контроля при доверительной вероятности  $P = 0,95$  (см. таблицу 3).



## 16 Протокол испытаний

Результаты испытаний оформляют в виде протокола испытаний, который должен включать следующее:

- информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- использованный метод отбора проб;
- использованный метод анализа со ссылкой на настоящий стандарт;
- обстоятельства, которые могли повлиять на результат испытания;
- полученный результат испытания.

**Приложение А**  
**(рекомендуемое)**

**Приготовление градуировочных растворов микотоксинов**

А.1 Для построения градуировочной характеристики используют разбавляющий раствор (см. таблицу 3) в качестве нулевой точки и четыре градуировочных раствора, значения массовой концентрации микотоксинов в которых приведены в таблице А.1. Порядок приготовления градуировочных растворов приведен в А.2—А.7.

Таблица А.1

Наименование показателя	Номер градуировочного раствора			
	1	2	3	4
Номинальная массовая концентрация афлатоксина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0002	0,0005	0,002	0,005
Содержание афлатоксина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах в пересчете на содержание афлатоксина В <sub>1</sub> в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 1, мкг/кг	2,0	5,0	20,0	50,0
Номинальная массовая концентрация ДОН в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0125	0,05	0,1	0,25
Содержание ДОН в градуировочных растворах в пересчете на содержание ДОН в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 3, мкг/кг	250	1000	2000	5000
Номинальная массовая концентрация зеараленона в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,001	0,004	0,012	0,04
Содержание зеараленона в градуировочных растворах в пересчете на содержание зеараленона в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1:4, мкг/кг	25	100	300	1000
Номинальная массовая концентрация охратоксина А в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0004	0,001	0,004	0,008
Содержание охратоксина А в градуировочных растворах в пересчете на содержание охратоксина А в пробе при массе навески 20 г, мкг/кг	2,0	5,0	20,0	40,0
Номинальная массовая концентрация Т-2 токсина в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,004	0,01	0,03	0,1
Содержание Т-2 токсина в градуировочных растворах в пересчете на содержание Т-2 токсина в пробе при массе навески 20 г, мкг/кг	20,0	50,0	150,0	500,0
Номинальная массовая концентрация фумонизина В1 в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0025	0,01	0,025	0,05
Содержание фумонизина в градуировочных растворах в пересчете на содержание фумонизина В1 в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 19, мкг/кг	0,25	1,0	2,5	5,0

Действительное значение массовой концентрации микотоксина  $C_{гр}$ , мг/дм<sup>3</sup>, в  $i$ -м градуировочном растворе вычисляют по формуле

$$C_{гр} = \frac{C_0 V_0}{V_i}, \quad (\text{А.1})$$

где  $C_0$  — действительное значение массовой концентрации микотоксина в растворе, взятом для разбавления, мг/дм<sup>3</sup>;  
 $V_0$  — объем раствора микотоксина, взятый для разбавления, см<sup>3</sup>;  
 $V_i$  — объем приготовленного градуировочного раствора, см<sup>3</sup>.



**A.4.3 Приготовление градуировочного раствора зеаралена № 3**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 3,3 см<sup>3</sup> основного раствора зеаралена (см. А.4.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеаралена — 0,012 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.4.4 Приготовление градуировочного раствора зеаралена № 2**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят пипеткой 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеаралена № 4 (см. А.4.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеаралена — 0,004 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.4.5 Приготовление градуировочного раствора зеаралена № 1**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят пипеткой 2,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеаралена № 4 (см. А.4.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеаралена — 0,001 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.5 Приготовление основного и градуировочных растворов охратоксина А****A.5.1 Приготовление основного раствора охратоксина А массовой концентрации 0,40 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 0,80 см<sup>3</sup> стандартного образца охратоксина А массовой концентрации 50 мг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

**A.5.2 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 4**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А, вносят 2,0 см<sup>3</sup> основного раствора охратоксина А (см. А.5.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,008 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.5.3 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 3**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 1,0 см<sup>3</sup> основного раствора охратоксина А (см. А.5.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,004 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.5.4 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают около 10 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 6,25 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 3 (см. А.5.3). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,001 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.5.5 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают около 10 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 2,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 3 (см. А.5.3). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,0004 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.6 Приготовление основного и градуировочных растворов фумонизина В<sub>1</sub>****A.6.1 Приготовление основного раствора фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 1 мг/дм<sup>3</sup>**

Основной раствор фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 10 мг/дм<sup>3</sup> готовят в два этапа. Готовят раствор фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 100 мг/дм<sup>3</sup>. Для этого в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают (10,0±0,5) мг фумонизина В<sub>1</sub>, добавляют около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1). Содержимое колбы перемешивают до полного растворения фумонизина В<sub>1</sub>, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Действительное значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub>  $C_{\Phi}$ , мг/дм<sup>3</sup>, в приготовленном растворе вычисляют по формуле

$$C_{\Phi} = \frac{m_{\Phi} \cdot w_{\Phi} \cdot 10}{V_{\Phi}}, \quad (\text{A.2})$$

где  $m_{\Phi}$  — масса навески фумонизина В<sub>1</sub>, мг;

$w_{\Phi}$  — массовая доля основного вещества, %;

10 — коэффициент согласования единиц измерения;

$V_{\Phi}$  — объем приготовленного градуировочного раствора, см<sup>3</sup>.

Далее приготовленный раствор разбавляют в 100 раз. Для этого в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> раствора А, добавляют 1 см<sup>3</sup> раствора фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 100 мг/дм<sup>3</sup>, перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и еще раз перемешивают.

**A.6.2 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 4**

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 2,5 см<sup>3</sup> основного раствора фумонизина В<sub>1</sub> (см. А.6.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,05 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.6.3 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 3**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 2,5 см<sup>3</sup> основного раствора фумонизина В<sub>1</sub> (см. А.6.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,025 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.6.4 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают около 10 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 5,0 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.6.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,01 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.6.5 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 1**

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> раствора А (см. 12.4.1), вносят 2,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.6.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,0025 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.7 Приготовление основного и градуировочных растворов Т-2 токсина****A.7.1 Приготовление основного раствора Т-2 токсина массовой концентрации 1,0 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 1,0 см<sup>3</sup> стандартного образца Т-2 токсина массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

**A.7.2 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 4**

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 5,0 см<sup>3</sup> основного раствора Т-2 токсина (см. А.7.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,1 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.7.3 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 3**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 3,33 см<sup>3</sup> основного раствора Т-2 токсина (см. А.7.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,03 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.7.4 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают около 10 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 2,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 4 (см. А.7.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,01 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.7.5 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 1**

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 10 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 2,0 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 4 (см. А.7.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,004 мг/дм<sup>3</sup>.

**Приложение Б**  
**(рекомендуемое)**

**Схема расположения лунок в планшете**

Таблица Б.1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	C <sub>0</sub>	П 4	П 12	П 20								
<b>B</b>	C <sub>1</sub>	П 5	П 13	П 21								
<b>C</b>	C <sub>2</sub>	П 6	П 14	П 22								
<b>D</b>	C <sub>3</sub>	П 7	П 15	П 23								
<b>E</b>	C <sub>4</sub>	П 8	П 16	П 24								
<b>F</b>	П 1	П 9	П 17	П 25								
<b>J</b>	П 2	П 10	П 18									
<b>G</b>	П 3	П 11	П 19									

1—12 — номера стрипов в планшете;

A—G — обозначения лунок в стрипах;

C<sub>0</sub> — лунка для нулевой точки;

C<sub>1</sub>—C<sub>4</sub> — лунки для градуировочных растворов, содержащий разные концентрации микотоксина;

П 1—П 25 — лунки для экстрактов проб.

**Приложение В**  
**(рекомендуемое)**

**Таблица для записи результатов измерений**

Таблица В.1

Маркировка луны	Значение оптической плотности, $D_i$		Процент связывания микотоксина $\frac{D_{гр}}{D_0} \cdot 100, \%$	Логарифм массовой концентрации микотоксина $LgC_i$	Массовая концентра- ция микро- токсина $C_i, \text{мг/дм}^3$	Содержание микотоксина в пробе $X_i, \text{мг/кг (млн}^{-1}\text{)}$
	по ячейкам	среднее				
A1		$D_0$				
B1		$D_{1гр}$				
C1		$D_{2гр}$				
D1		$D_{3гр}$				
E1		$D_{4гр}$				
F1		$D_{1к}$				
J1		$D_{2к}$				
G1		$D_{1а}$				
A2		$D_{2а}$				
B2		$D_{3а}$				



Ключевые слова: корма, комбикорма, комбикормовое сырье, сумма афлатоксинов, афлатоксин В<sub>1</sub>, ДОН, зеараленон, охратоксин А, Т-2 токсин, фумонизин, тест-система, конкурентный прямой твердофазный иммуноферментный метод

---

**БЗ 9—2017/55**

Редактор *Е.В. Таланцева*  
Технический редактор *В.Н. Прусакова*  
Корректор *Е.Д. Дульнева*  
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 18.09.2017. Подписано в печать 02.10.2017. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,59. Тираж 27 экз. Зак. 1778.  
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001 Москва, Гранатный пер., 4  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)