Уральский научно-исследовательский институт метрологии - филиал
Федерального государственного унитарного предприятия
«Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им.Д.И.Менделеева»
(УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»)

620075, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4
тел: +7(343)350-26-18, факс: +7(343)350-20-39, uniim@uniim.ru, www.uniim.ru

Уникальный номер записи об аккредитации в реестре аккредитованных лиц RA.RU.311866

ВНИИМ
им. Д.И.Менделеева

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики (метода) измерений

№ 241.0010/RA.RU.311866/2023

Методика измерений массовой доли микотоксинов в пробах пищевых продуктов,
наименование методики, включая указание измеряемой величины, шкалы величины (шкалы измерений),
кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых,
объекта, диапазона и реализуемый способ измерений и, при необходимости, наименование дополнительных параметров
масличных культур продовольственного и кормового назначения,

отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности

методом иммуноферментного анализа

разработанная ОДО «КомПродСервис», 220114, г. Минск, ул. Филимонова, д. 25 Г,
наименование и адрес организации (предприятия), разработавшей методику
пом. 1000,

содержащаяся в документе МУК К001-23 «Методика измерений массовой доли
обозначение и наименование документа, содержащего методику, год утверждения, число страниц
микотоксинов в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового

сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культур продовольственного и кормового

назначения, отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности

методом иммуноферментного анализа», утв. в 2023 г., на 66 стр.

Аттестация проведена на основе экспериментальных исследований.
теоретических и (или) экспериментальных исследований

Методика измерений аттестована в соответствии с Приказом Минпромторга России от 15.12.2015 г. № 4091

В результате аттестации методики измерений установлено, что методика измерений соответствует метрологическим требованиям, приведенным в Федеральном законе от 26.06.2008 г. № 102-ФЗ "Об обеспечении единства измерений"

ГОСТ Р 8.563-2009, Техническом задании ОДО «КомПродСервис»
другие нормативные правовые акты Российской Федерации, нормативные документы (при наличии)

Показатели точности измерений приведены в приложении на 2 л., являющемся неотъемлемой частью настоящего свидетельства.

Директор филиала **Е.П. Собина**

Зав. лабораторией **О.С. Голынец**

Дата выдачи 07.08.2023

М.П.

ПРИЛОЖЕНИЕ
К СВИДЕТЕЛЬСТВУ № 241.0010/RA.RU.311866/2023
об аттестации МУК К001-23 «Методика измерений массовой доли микотоксинов в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культурах продовольственного и кормового назначения, отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности методом иммуноферментного анализа»
на 2 листах

Выполнение измерений по настоящей методике обеспечивает получение результатов измерений массовой доли микотоксинов в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культурах продовольственного и кормового назначения, отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности в диапазонах измерений и с характеристиками относительной погрешности измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$, приведенными в таблицах 1, 2.

Таблица 1 – Диапазоны измерений массовой доли микотоксинов

Наименование микотоксина	Диапазон измерений массовой доли микотоксина
Афлатоксин B_1	от 2,0 до 40,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Дезоксиниваленол	от 0,07 до 2,50 вкл. мг/кг (ppm)
Зеараленон	от 20,0 до 450,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Охратоксин А	от 2,0 до 40,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Патулин	от 1,0 до 50,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Токсин Т-2	от 20,0 до 560,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Фумонизины	от 0,05 до 5,00 вкл. мг/кг (ppm)
Цитринин	от 15,0 до 405,0 вкл. мкг/кг (ppb)

И.о. зав. лаб. 241,
Эксперт-метролог в области
аттестации методик измерений
№ RUM 02.24.0746-3 от 30.04.2021 О.С. Голынец

07.08.2023

ПРИЛОЖЕНИЕ
К СВИДЕТЕЛЬСТВУ № 241.0010/RA.RU.311866/2023
об аттестации МУК К001-23 «Методика измерений массовой доли микотоксинов в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культурах продовольственного и кормового назначения, отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности методом иммуноферментного анализа»
на 2 листах

Таблица 2 – Значения показателей точности, повторяемости, воспроизводимости и правильности

Наименование (обозначение) микотоксина	Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости), σ_{r0}	Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости), σ_{R0}	Показатель правильности (границы относительной неисключенной систематической погрешности при доверительной вероятности P=0,95), $\pm\,\delta_c$	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности P=0,95), $\pm\,\delta$
Афлатоксин B_1	9	10	8	25
Дезоксиниваленол	10	11	9	28
Зеараленон	9	10	9	26
Охратоксин А	9	10	9	26
Патулин	8	11	9	28
Токсин Т-2	9	10	9	26
Фумонизины[1]	7	9	9	25
Цитринин	14	15	10	35
[1]с пересчетом на фумонизин B_1				

Показатели точности методики измерений были оценены в ходе межлабораторного эксперимента с участием 5 лабораторий, организованного в соответствии с 5.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-2 в 2023 г.

И.о. зав. лаб. 241,
Эксперт-метролог в области
аттестации методик измерений
№ RUM 02.24.0746-3 от 30.04.2021 _____ О.С. Голынец

07.08.2023

ОДО «КомПродСервис»

УТВЕРЖДАЮ
Директор
ОДО «КомПродСервис»
_____Д.Ч. Кучинский
«7» _____08_____ 2023 г.

Методика измерений массовой доли микотоксинов в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культурах продовольственного и кормового назначения, отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности методом иммуноферментного анализа

МУК К001-23

Минск, 2023

ПРЕДИСЛОВИЕ

СВЕДЕНИЯ О РАЗРАБОТКЕ

1 РАЗРАБОТАНА:

Общество с дополнительной ответственностью «КомПродСервис» (ОДО «КомПродСервис»), г. Минск, ул. Филимонова, д. 25г, пом. 1000

Руководитель Д.Ч. Кучинский

Зав. лабораторией С.В. Ткачев

2 ВВЕДЕНА ВПЕРВЫЕ

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

3 АТТЕСТОВАНА: Уральским научно-исследовательским институтом метрологии – филиалом Федерального государственного унитарного предприятия «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева» (УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»), 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4

Лаборатория метрологии влагометрии и стандартных образцов (лаб.241)

И.о. зав. лабораторией О.С. Голынец

Инж. 1 категории О.Е. Первухина

УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева» имеет аттестат аккредитации метрологической службы на право аттестации методик (методов) измерений и проведения метрологической экспертизы документов и зарегистрирован в Реестре аккредитованных метрологических служб юридических лиц под № RA.RU.311866 от 07.09.2016г.

Свидетельство об аттестации методики измерений № 241.0010/RA.RU.311866/2023 от «07» августа 2023 г.

Содержание

ВВЕДЕНИЕ 4
I. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ 5
II. НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ 6
III. ТРЕБОВАНИЯ К ПОКАЗАТЕЛЯМ ТОЧНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ 8
IV. ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ИЗМЕРЕНИЙ, СТАНДАРТНЫМ ОБРАЗЦАМ, ИСПЫТАТЕЛЬНОМУ ОБОРУДОВАНИЮ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫМ УСТРОЙСТВАМ, РЕАКТИВАМ И МАТЕРИАЛАМ 10
V. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ 15
VI. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ 16
VII. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ, ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ 18
VIII. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ 20
IX. ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ИЗМЕРЕНИЙ 20
X. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ 20
XI. ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ 35
XII. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ 38
XIII. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ 41
XIV. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ 42
ПРИЛОЖЕНИЕ А (ОБЯЗАТЕЛЬНОЕ) Область применения методики измерений 44
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (ОБЯЗАТЕЛЬНОЕ) Алгоритм оценки показателей точности для других матриц 47
ПРИЛОЖЕНИЕ В (обязательное) Процедура приготовления и расчет метрологических характеристик образцов для оценивания 52
ПРИЛОЖЕНИЕ В (обязательное) Коэффициенты перекрестно-реагирующих производных соединений 65

Введение

Наличие микотоксинов в кормах, продовольственном сырье и продуктах питания вызывает ряд необратимых патологических изменений в организме, представляя серьёзную угрозу для здоровья человека и животных, и приносит большой экономический ущерб в сельском хозяйстве.

Во многих странах мира существует обязательная система контроля кормов, пищевого сырья и продуктов питания на наличие и содержание основных микотоксинов. В частности, в странах ЕС — это отражено в ряде Регламентов и Директив ЕС, таких как 2002/32/ЕС, ЕЕС № 1881/2006, 2006/576/ЕС и т.д. В Республике Беларусь эти мероприятия регулируются санитарными нормами и правилами «Требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам», утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.06.2013 г. № 52, и гигиеническим нормативом «Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.06.2013 г. № 52, ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна» и ветеринарно-санитарными правилами обеспечения безопасности кормов, кормовых добавок и сырья для производства комбикормов, утвержденными Постановлением Минсельхозпрода РБ от 10.02.2011 г. № 10 в редакции № 33 от 20.05.2011 г.

Методика измерений массовой доли микотоксинов в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культурах продовольственного и кормового назначения, отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности методом иммуноферментного анализа

Дата введения: август 2023 г.

I. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий документ устанавливает методику измерений массовой доли микотоксинов (афлатоксин В1 (далее – АВ1), дезоксиниваленол (далее – ДОН), зеараленон, охратоксин А (далее – ОТА), патулин, Т-2 токсин (далее – Т-2), фумонизины группы В, цитринин) в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культур продовольственного и кормового назначения, отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности методом конкурентного иммуноферментного анализа в диапазонах измерений массовых долей микотоксинов, указанных в таблице 1.

Область применения методики в соответствии с классификатором продукции ОК 034-2014 (КПЕС 2008) приведена в Приложении А.

Настоящая методика измерений предназначена для применения в испытательных лабораториях, занимающихся контролем безопасности пищевой продукции и продовольственного сырья.

Методика измерений может быть использована для подтверждения соответствия продукции обязательным Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), утверждённым Решением Комиссии таможенного союза от 28 мая 2010 года N 299, ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна» (в части контроля массовой доли афлатоксина В1, дезоксиниваленола, зеараленона, охратоксина А, Т-2 токсина, фумонизины В1 и В2), ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» (в части контроля массовой доли афлатоксина В1, дезоксиниваленола, зеараленона, охратоксина А, патулина, Т-2 токсина, фумонизины В1 и В2) и других документов, содержащих требования безопасности к отдельным видам пищевой продукции и кормам.

Таблица 1– Диапазоны измерений массовой доли микотоксинов

Наименование микотоксина	Диапазон измерений массовой доли микотоксина
АВ1	от 2,0 до 40,0 вкл. мкг/кг (ppb)
ДОН	от 0,07 до 2,50 вкл. мг/кг (ppm)
Зеараленон	от 20,0 до 450,0 вкл. мкг/кг (ppb)
ОТА	от 2,0 до 40,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Патулин	от 1,0 до 50,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Т-2	от 20,0 до 560,0 вкл. мкг/кг (ppb)
Фумонизины	от 0,05 до 5,00 вкл. мг/кг (ppm)
Цитринин	от 15,0 до 405,0 вкл. мкг/кг (ppb)

II. НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей методике использованы ссылки на следующие нормативные документы:

ГОСТ 12.0.004-2015 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

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

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

ГОСТ 83-79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 618-2014 Фольга алюминиевая для технических целей. Технические условия

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная

ГОСТ 4201-79 Реактивы. Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4204-77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4220-75 Реактивы. Калий двухромовокислый. Технические условия

ГОСТ 4233-77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6552-80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6995-77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 9968-86 Метилен хлористый технический. Технические условия

ГОСТ 10852-86 Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 12036-85 Семена сельскохозяйственных культур. Правила приемки и методы отбора проб

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

ГОСТ 13586.3-2015 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

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

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

ГОСТ 26809.1-2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

ГОСТ 26312.1-84 Крупа. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 27668-88 Мука и отруби. Приемка и методы отбора проб

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 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 29245-91 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей

ГОСТ 31339-2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 31467-2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ 33303-2015 Продукты пищевые. Методы отбора проб для определения микотоксинов

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

ГОСТ Р 8.568-2017 Государственная система обеспечения единства измерений. Аттестация испытательного оборудования. Основные положения

ГОСТ Р 8.891-2015 Государственная система обеспечения единства измерений. Измерительные и индикаторные биохимические тест-системы. Технические и метрологические требования. Основные положения

ГОСТ Р 51447-99 Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

ГОСТ Р 55878-2013 Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия

ГОСТ Р 58144-2018 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ Р ИСО 707-2010 Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб

ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ ISO 6497-2014 Корма. Отбор проб

ТР ТС 015/2011 О безопасности зерна

ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции

ОК 034-2014 (КПЕС 2008) Общероссийский классификатор продукции по видам экономической деятельности

РМГ 61-2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки

РМГ 76-2014 Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа

ТУ 2631-158-44493179-13 Гексан химически чистый, чистый для анализа. Технические условия.

Примечание – При пользовании настоящей методикой измерений целесообразно проверить действие ссылочных стандартов на территории Российской Федерации по соответствующему указателю стандартов, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящей методикой измерений следует руководствоваться замененным (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

III. ТРЕБОВАНИЯ К ПОКАЗАТЕЛЯМ ТОЧНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

3.1 Выполнение измерений по настоящей методике обеспечивает получение результатов измерений содержания микотоксинов в пробах пищевых продуктов, кормов для животных и комбикормового сырья, зерновых, зернобобовых, масличных культур продовольственного и кормового назначения, отходов виноделия, пивоварения и

спиртовой промышленности в диапазоне измерений и с характеристиками относительной погрешности измерений при доверительной вероятности $P = 0{,}95$, приведенными в таблице 2.

Таблица 2 – Значения показателей точности, повторяемости, воспроизводимости и правильности

В процентах

Наименование (обозначение) микотоксина	Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости), σ_{r0}	Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости), σ_{R0}	Показатель правильности (границы относительной неисключенной систематической погрешности при доверительной вероятности P=0,95), $\pm\,\delta_c$	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности P=0,95), $\pm\,\delta$
AB_1	9	10	8	25
ДОН	10	11	9	28
Зеараленон	9	10	9	26
ОТА	9	10	9	26
Патулин	8	11	9	28
Токсин Т-2	9	10	9	26
Фумонизины [1]	7	9	9	25
Цитринин	14	15	10	35
[1]с пересчетом на фумонизин B_1				

3.2 Показатели точности методики измерений были оценены в ходе межлабораторного эксперимента с участием 5 лабораторий, организованного в соответствии с 5.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-2 в 2023 г.

3.3 По мере накопления информации в процессе применения методики измерений возможно уточнение значений показателей точности (по результатам внутреннего контроля по РМГ 76) или расширение области применения и (или) диапазона измерений. Пример плана экспериментальных исследований по оценке показателей точности методики в соответствии с РМГ 61 для других матриц представлен в Приложении Б. После чего методика измерений предоставляется на повторную (новую) аттестацию

в соответствии с Порядком, регламентированным Приказом Минпромторга России от 15.12.2015 № 4091.

IV. ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ИЗМЕРЕНИЙ, СТАНДАРТНЫМ ОБРАЗЦАМ, ИСПЫТАТЕЛЬНОМУ ОБОРУДОВАНИЮ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫМ УСТРОЙСТВАМ, РЕАКТИВАМ И МАТЕРИАЛАМ

Получение результата измерений содержания микотоксина с характеристиками относительной погрешности, указанными в таблице 2, обеспечивается при выполнении измерений с помощью следующих средств измерений, стандартных образцов, вспомогательного оборудования, реактивов и материалов:

4.1 Средства измерений и посуда лабораторная

- дозаторы (пипетки) автоматические или механические одноканальные и 8-канальные с возможностью дозирования от 5 до 100 мм^3, от 100 до 1000 мм^3, от 2500 до 5000 мм^3 с допускаемым относительным СКО не более 5,0 % по ГОСТ 28311;
- весы неавтоматического действия I (специального) или II (высокого) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 или ГОСТ Р 53228, с максимальной нагрузкой 400 г, дискретностью не более 0,1 г;
- спектрофотометр, способный проводить измерения при длине волны 450 нм в диапазоне от 0 до 2,5 Б, с относительной погрешностью измерения оптической плотности (далее – ОП) не более 5 %, например, фотометр микропланшетный модификации ELx800 производства фирмы «BioTek Instruments Inc.» (США), номер в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений (далее – ФиФ) 62423-15;
- воронки стеклянные по ГОСТ 25336;
- пипетки градуированные 1-го или 2-го кл. точности вместимостью 1, 2, 5 и 10 см^3 по ГОСТ 29227;
- пипетка Пастера стеклянная или пластмассовая;
- цилиндры мерные вместимостью 50, 100 и 500 см^3 по ГОСТ 1770;
- колбы мерные 2 кл. точности вместимостью 25, 50, 100, 250 и 1000 см^3 по ГОСТ 1770;
- колбы конические вместимостью 100, 500 и 1000 см^3 по ГОСТ 25336;
- наконечники одноразовые для автоматических или механических одноканальных или 8-канальных дозаторов (пипеток) вместимостью от 50 до 5000 мм^3;
- пробирки полипропиленовые или стеклянные с пробкой вместимостью 100 см^3;
- пробирки полипропиленовые центрифужные с крышкой (типа Фалкон)

вместимостью 15 и 50 см^3;

- стаканы химические вместимостью 100 и 500 см^3 по ГОСТ 25336;

- флаконы из полимерных материалов или стекла с завинчивающейся крышкой вместимостью 20 и 40 см^3;

- чашки Петри стеклянные многоразовые диаметром 100 мм^3, высотой 15 мм^3 или кюветы для дозирования жидких реагентов при использовании многоканальной пипетки;

- ёмкости из полимерных материалов или стекла для хранения химических веществ с плотно закрывающимися крышками вместимостью 50-100 см^3.

4.2 Испытательное оборудование, вспомогательные устройства, стандартные образцы, чистые вещества реактивы и материалы

- водяная баня, обеспечивающая температуру нагрева (37 – 55) °С;

- секундомер с допускаемой погрешностью при измерении интервала времени до 30 минут ±3 секунды;

- термостат суховоздушный или инкубатор, поддерживающий температуру (20 –25) °С;

- центрифуга с частотой вращения не менее 10000 об/мин. и охлаждением до 10 °С;

- лабораторный встряхиватель, диапазон регулирования скорости (0-300) об/мин;

- мельница типа «Циклон» (Cyclotec Tecator, Швеция; ЛМТ-1, Россия и др.), снабженная металлическими ситами с отверстиями диаметром 1 мм, обеспечивающая 100 %-ный проход частиц через сита;

- мельница типа МЛЗ или других аналогичных марок по ТНПА, обеспечивающая требуемую крупность размола;

- сито лабораторное с размером отверстий 1000 мкм из ткани по ГОСТ 4403;

- лабораторный гомогенизатор, например, мельница лабораторная или бытовой погружной блендер, позволяющие получить пробу для анализа с частицами требуемой крупности;

- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026;

- бумага индикаторная универсальная pH от 0,00 до 14,00;

- мешалка магнитная;

- холодильник бытовой электрический;

- шейкер для пробирок, например, Votrex, с вставкой для одной пробирки с частотой вращения не менее 100 об/мин;

- шпатели или палочки стеклянные;

- натрий углекислый (Na_2CO_3) по ГОСТ 83, х.ч.;

- кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.;
- натрий углекислый кислый ($NaHCO_3$) по ГОСТ 4201, х.ч.;
- калия бихромат по ГОСТ 4220, х.ч.;
- хлористый натрий (NaCl) по ГОСТ 4233, х.ч.;
- гидроксид натрия (натрия гидроокись) (NaOH) по ГОСТ 4328, х.ч.;
- кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552, х.ч.;
- метанол по ГОСТ 6995, ч.д.а;
- хлористый метилен по ГОСТ 9968 х.ч.;
- вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144 или деионизированная;
- гексан (C_6H_{14}) для хроматографии по ТУ 2631-158-44493179, х.ч.;
- газообразный азот;

Примечание – применяется при подготовке проб орехов с высоким содержанием масел.

- парафильм М (Parafilm® M) или крышка для инкубаций;
- тест-наборы для количественного определения конкретного микотоксина по технологии иммуноферментного анализа (далее – ИФА) МУЛЬТИСКРИН, выпускаемые по технической документации ОДО «КомПродСервис», состав которых представлен в таблице 3;
- стандартный образец состава раствора афлатоксина B_1 в смеси бензола и ацетонитрила (B_1-10) ГСО 7936-2001 с диапазоном аттестованных значений от 9 до 11 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95;
- стандартный образец состава раствора дезоксиниваленола в ацетонитриле (Д-100) ГСО 7940-2001 с диапазоном аттестованных значений от 90 до 110 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95;
- стандартный образец состава раствора зеараленона в бензоле (З-100) ГСО 7944-2001 с диапазоном аттестованных значений от 90 до 110 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95;
- стандартный образец состава раствора охратоксина А в смеси бензола и уксусной кислоты (О-50) ГСО 7941-2001 с диапазоном аттестованных значений от 45 до 55 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95;

- стандартный образец состава раствора патулина в смеси бензола и ацетонитрила (П-100) ГСО 7938-2001 с диапазоном аттестованных значений от 90 до 110 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95;

- стандартный образец состава раствора Т-2 токсина в бензоле ГСО 7942-2001 с диапазоном аттестованных значений от 90 до 110 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95;

- чистое вещество (CAS[1] 1217458-62-2) состава раствора фумонизина B_1 в ацетонитриле с аттестованным значением 50,0 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95;

- чистое вещество (CAS 518-75-2) состава раствора цитринина в метаноле с массовой долей основного вещества 100,2 % и с границами относительной неопределенности ± 0,6 % при P = 0,95.

Примечание – В случае наличия стандартных образцов состава микотоксинов, удовлетворяющих по требованиям к чистоте, предпочтительнее применение стандартного образца.

4.3 Применяемые средства измерений по 4.1 должны быть утверждены Росстандартом, зарегистрированы в Государственном реестре СИ, внесены в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. Свидетельства о поверке СИ и паспорта (сертификаты) на применяемые стандартные образцы должны быть действующими. Испытательное оборудование должно быть аттестовано в соответствии с ГОСТ Р 8.568.

4.4 Допускается применение других средств измерений, испытательного оборудования, вспомогательных устройств, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерений, а также реактивов и материалов, в т.ч. импортного производства, по качеству не хуже вышеуказанных, за исключением тест-наборов по 4.2.

[1] CAS – уникальный численный международный идентификатор химических соединений.

Таблица 3 – Состав тест-наборов для количественного определения микотоксинов

№ п/п	Состав наборов реагентов	Название тест-системы							
		AB_1	**ДОН**	**Зеараленон**	**ОТА**	**Патулин**	**Т-2**	**Фумонизин**	**Цитринин**
1.	Микропланшетный иммуносорбент, покрытый антителами к микотоксинам, 1 планшет, состоящий 12 стрипов по 8 лунок (всего 96 лунок)	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	Планшет для смешивания, 1 планшет, состоящий 12 стрипов по 8 лунок (всего 96 лунок)	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	Градуировочные пробы с известными массовыми концентрациями микотоксина, мг/кг (мкг/см^3), флаконы объемом не менее 0,7 см^3	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	Конъюгат, концентрат или готовый к использованию, 1 флакон объемом не менее 0,7 см^3	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	Антитела, специфичные к микотоксину, 1 флакон объемом не менее 3 см^3	-	-	-	-	-	-	-	+
6.	Раствор для разведения конъюгата, 1 флакон объемом не менее 12 см^3	-	+	+	+	-	+	-	-
7.	Буфер для разведения образцов, 10-кратный концентрат, 1 флакон объемом не менее 25 см^3	-	-	-	-	+	-	-	-
8.	Раствор промывочного буфера, 10 или 20-кратный концентрат, 1 флакон объемом не менее 25 см^3	+	+	+	+	+	+	-	-
9.	Хромоген-субстратный раствор или ТМБ, 1 флакон объемом не менее 10 см^3	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	Стоп-реагент,1 флакон объемом не менее 12 см^3	+	+	+	+	+	+	+	+
11.	Инструкции по применению тест-набора	+	+	+	+	+	+	+	+
12.	Паспорт качества	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечания:

1 Для удобства расчетов результатов анализа сделан перевод истинных концентраций микотоксина в градуировочных растворах в массовые доли микотоксина в образцах путём умножения на коэффициент, учитывающего фактор разведения при подготовке пробы из исследуемого образца продукции, что позволяет находить значение массовой доли микотоксина в образце непосредственно по градуировочному графику. Коэффициент перевода в массовую долю в соответствии с инструкцией по применению к тест-системе для определения конкретного микотоксина.

2 В состав набора вместо хромоген-субстратный раствора могут быть включены: раствор хромогена ТМБ (3,3',5,5'-тетраметилбензидин), 1 флакон, 0,7 см^3, и субстратный буферный раствор 1 флакон, 14 см^3.

3 Все тест-системы выпускаются под названием в соответствии с определяемым микотоксином, например, МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1 (для количественного определения афлатоксина B_1), МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол (для количественного определения дезоксиниваленола) и так далее.

4.5 Применяемые средства измерений по 4.1 – 4.2 должны быть утверждены Росстандартом, зарегистрированы в Государственном реестре СИ, внесены в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. Свидетельства о поверке СИ должны быть действующими. Испытательное оборудование должно быть аттестовано в соответствии с ГОСТ Р 8.568. Применяемые стандартные образцы, чистые вещества и реактивы должны иметь действующие паспорта (сертификаты).

V. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

В наборах МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин В1, МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин, А МУЛЬТИСКРИН Патулин, МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2, МУЛЬТИСКРИН Фумонизин использован метод прямого конкурентного ИФА. В лунки иммунологического планшета, покрытых специфическими антителами против одного из определяемых микотоксинов, добавляют градуировочные растворы, растворы образцов и микотоксин, меченный пероксидазой. Микотоксин в пробе и микотоксин конъюгата конкурируют друг с другом за места связывания со специфичными антителами.

Примечание – В наборе МУЛЬТИСКРИН Цитринин использован другой вариант конкурентного ИФА. В лунки иммунологического планшета, покрытых цитринином, добавляют стандарты, растворы образцов и антитела специфичные к цитринину. Свободный и иммобилизованный цитринин конкурируют за места связывания антител к цитринину. После промывки планшета в лунки добавляются вторичные антитела, меченные пероксидазой. Они связываются со связанными антителами против цитринина. Остальные стадии проведения анализа такие же как в других наборах.

Все несвязанные компоненты реакции удаляются промывкой. Далее, хромоген-субстратный раствор вносится в лунки, пероксидаза конъюгата преобразует хромоген в синий продукт. Затем добавляют стоп-реагент, который останавливает ферментативную реакцию и одновременно изменяет окраску раствора с голубой на желтую.

Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на многоканальном планшетном фотометре как величину оптической плотности, выраженную в оптических единицах (о.е.), при длине волны 450 нм. На основании значений оптической плотности строится градуировочный график и рассчитывается массовая доля анализируемого микотоксина в исследуемых образцах, учитывая фактор разведения пробы.

Примечание – В случае наличия стандартных образцов состава микотоксинов, удовлетворяющих по требованиям к чистоте, предпочтительнее применение стандартного образца.

Иммуноферментный метод измерений с использованием тест-систем имеет следующие характеристики специфичности, выраженные в значениях нижнего предела чувствительности (предела обнаружения) по таблице 4 и коэффициентах перекрестно-реагирующих производных соединений (см. Приложение Г).

Таблица 4 – Нижние пределы чувствительности наборов реагентов МУЛЬТИСКРИН

Наименование (обозначение) микотоксина	Нижний предел чувствительности
Афлатоксин B_1	1,0 мкг/кг (ppb)
ДОН	0,07 мг/кг (ppm)
Зеараленон	20,0 мкг/кг (ppb)
ОТА	1,0 мкг/кг (ppb)
Патулин	1,0 мкг/кг (ppb)
Токсин Т-2	20,0 мкг/кг (ppb)
Фумонизин	0,05 мг/кг (ppm)
Цитринин	15,0 мкг/кг (ppb)

Примечание – Нижние пределы чувствительности для тест-систем указаны в соответствующих инструкциях по применению.

VI.ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ

6.1 Тест-наборы по 4.2 должны храниться в упаковке предприятия-изготовителя в холодильнике при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке набора.

6.2 Тест-набор рассчитан на проведение анализа 43 исследуемых проб и 5 градуировочных проб в двух параллельных определениях (всего 96 определений), тест-набор для определения фумонизина и патулина рассчитан на проведение

42 исследуемых проб и 6 градуировочных проб. Построение градуировочной кривой осуществляют при каждой постановке тест-набора.

6.3 В случае дробного использования тест-набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно упаковать в фольгированный пакет с застежкой и осушителем, чтобы предотвратить воздействие влаги, и хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности набора;

- недопустимо смешивать, заменять и использовать в одной постановке реагенты из тест-наборов с разными номерами партии или отдельные компоненты из наборов других производителей;

- для приготовления каждого реагента необходимо использовать отдельную стеклянную емкость. Всю используемую для приготовления реагентов стеклянную посуду обязательно тщательно вымыть хромовой смесью и многократно промыть водопроводной водой, в конце ополоснуть дистиллированной водой по ГОСТ Р 58144;

- перед использованием встряхивают каждый флакон с реагентом;

- необходимо тщательно, но аккуратно перемешивать содержимое каждого компонента, а также растворы в лунках планшета для смешивания. Во всех случаях следует избегать образования пены;

- после использования реагента немедленно закрыть крышку флакона. Каждый флакон необходимо закрывать своей крышкой;

- конъюгат, раствор для разведения конъюгата, антитела, специфичные к микотоксину, концентрат или готовый раствор промывочного раствора, буфер для разведения образцов, ТМБ, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности тест-набора;

- оставшиеся неиспользованными градуировочные и контрольные пробы следует хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности тест-набора, при этом допускается их однократно замораживать и размораживать. В случае многократного использования градуировочные пробы следует разлить на аликвоты и хранить при температуре минус 20 °С.

6.4 Необходимо уделять особое внимание правильной промывке лунок между стадиями, так как это может влиять на воспроизводимость результатов. Промывка может проводиться как вручную, так и с использованием автоматических устройств. При каждой отмывке вносить 200 мм^3 промывочного раствора в лунку. Задержка при отмывке

(«замачивание») не требуется. После окончания ручной отмывки необходимо резко опрокидывать планшет на фильтровальную бумагу для удаления остатков промывочного раствора.

Примечание – При проведении анализа с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Патулин, МУЛЬТИСКРИН Цитринин необходимо вносить 250 мм^3 промывочного раствора в лунку при каждой отмывке.

6.5 При выполнении ИФА, все последовательные стадии следует заканчивать, не делая перерывов, соблюдать рекомендуемые ограничения по времени и температуре, выдерживать установленную продолжительность инкубации в соответствии с инструкцией к используемой тест-системе.

6.6 Во время анализа необходимо избегать воздействия прямого солнечного света на лунки планшета и светочувствительный раствор хромогена.

Каждая лунка стрипа при изменении оптической плотности выступает в роли оптической кюветы, поэтому необходимо избегать прикосновения и загрязнения нижней стороны лунок.

6.7 Не допускать высыхание лунок между этапами анализа во избежание ложных результатов, после промывания лунок сразу же приступать к следующему этапу.

6.8 Результаты считать недействительными, если:

- окрашивание хромогена изменилось на голубоватый цвет до проведения реакции.

6.9 Оптимальная температура проведения инкубаций от +20 °С до +25 °С.

6.10 После остановки реакции с ТМБ измерять оптическую плотность в течение не более 15 минут.

6.11 Для реагентов из состава тест-набора и растворов, подготовленных по 10.5, используют отдельные (индивидуальные) съемные наконечники для автоматических или механических одноканальных и 8-канальных дозаторов (пипеток). Внесение реагентов и растворов в лунки планшета проводят осторожно, не касаясь наконечниками их дна и стенок.

6.12 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей методики измерений.

VII. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ, ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

7.1 При выполнении измерений должны соблюдаться следующие требования безопасности:

- техника безопасности при работе с химическими реактивами и токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами – по ГОСТ 12.1.007;

- организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

7.2 Помещение, в котором производится выполнение измерений, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

7.3 При выполнении измерений с использованием спектрофотометра и работе с электроустановками необходимо соблюдать правила электробезопасности в соответствии ГОСТ 12.1.019 и правила, описанные в соответствующих инструкциях по эксплуатации.

7.4 Необходимо соблюдать меры предосторожности при работе с анализируемыми образцами, экстрактами и градуировочными растворами, так как они содержат микотоксины, которые обладают токсическим воздействием.

7.5 При работе с тест-набором необходимо соблюдать следующие требования безопасности:

- стоп-реагент содержит 0,5 М раствор серной кислоты. Следует не допускать попадания реагента на кожу и слизистые;

- при работе с метанолом соблюдать общие санитарные правила по хранению и применению метанола, применять средства индивидуальной защиты от попадания препарата на кожные покровы и слизистые оболочки (халаты, очки и перчатки), а также соблюдать правила личной гигиены.

- раствор ТМБ токсичен при вдыхании, контакте с кожей и проглатывании, при обращении необходимо соблюдать меры предосторожности;

- избегать контакта всех реагентов с кожей и слизистыми оболочками;

- при дозировании реагентов избегать вдыхания реагентов, работать только в защитных перчатках / защитной одежде;

- реагенты использовать только по назначению, квалифицированным лабораторным персоналом, в соответствующих лабораторных условиях.

7.6 Утилизацию использованных проб проводят в соответствии с нормативной документацией, установленной в организации.

VIII. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают лиц с высшим или средним специальным образованием, прошедших соответствующую подготовку и имеющих навыки работы в области иммуноферментного анализа. К проведению анализа допускается только персонал, ознакомленный с руководством по эксплуатации спектрофотометра и освоивший настоящую методику.

IX. ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений соблюдают следующие условия

- температура окружающего воздуха	от +20 °С до +30 °С;
- относительная влажность воздуха	не более 80 %.

X. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

10.1 Отбор и правила хранения проб

10.1.1 Отбор проб осуществляют в соответствии со следующими документами:

- ГОСТ ISO 6497 для проб кормов для животных,
- ГОСТ 10852 для проб масличных культур,
- ГОСТ 13496.0 для проб комбикормов и комбикормового сырья,
- ГОСТ 13586.3, ГОСТ ISO 24333, ГОСТ 27668 для проб зерновых и зернобобовых культур и продуктов их переработки,
- ГОСТ 13979.0 для жмыхов и шротов,
- ГОСТ 31339 для проб рыбы и морепродуктов, нерыбных объектов и продукции, вырабатываемой из них,
- ГОСТ 26312.1 для продукции мукомольно-крупяной промышленности,
- ГОСТ 26809.1, ГОСТ Р ИСО 707 для проб молока и молочных продуктов,
- ГОСТ 33303 для проб продуктов переработки масличных культур,
- ГОСТ Р 51447 для мясных продуктов,

либо иной действующей нормативной и (или) технической документацией по отбору проб. Пробы доставляются в лабораторию сразу после их отбора.

10.1.2 Отобранные пробы хранить в защищенном от света месте при температуре от плюс 2 до плюс 25 °С в течение 30 суток без доступа влаги. Допускается хранение при температуре минус 18 °С в течение 6 месяцев в условиях, исключающих изменение их влажности. Перед проведение пробоподготовки замороженные пробы должны быть

размороженны при температуре от плюс 2 до плюс 4 °С.

Пробы хранят в пакетах, а также в непроницаемых для влаги и воздуха контейнерах, снабженных герметичными крышками (пакеты и контейнеры для переноса отобранных проб и хранения подготовленных проб рекомендуется подбирать таким образом, чтобы проба заполняла емкость не менее чем на 80 % ее вместимости)

Пробы хранят в соответствии с условиями, рекомендованными изготовителем и указанными в сопроводительной документации или на этикетке.

10.2 Подготовка посуды стеклянной

При подготовке к проведению измерений посуду стеклянную моют смесью бихромата калия с концентрированной серной кислотой (соотношение бихромата калия и концентрированной серной кислотой в смеси – 1:33), затем многократно промывают водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

10.3 Подготовка средств измерений

Средства измерений, испытательное оборудование и вспомогательные устройства подготавливают к проведению измерений в соответствии с Руководством по эксплуатации.

10.4 Подготовка тест-набора, растворов и реагентов

10.4.1 Тест-набор хранят в соответствии с 6.1. Перед проведением измерений все реагенты тест-набора (включая необходимое число стрипов) доводят до комнатной температуры (от +20 °С до +25 °С) в течение 30 – 60 минут.

В случае, если перед разведением концентратов раствора промывочного буфера образовались кристаллы, их растворяют путём встряхивания при температуре +37 °С.

10.4.2 Подготовка планшета

Вскрывают пакет с планшетом и устанавливают на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы хранят в соответствии с 6.3.

10.4.2 Приготовление 20 %-го раствора гидроксида натрия (NaOH)

Навеску гидроксида натрия массой $(10{,}0 \pm 0{,}1)$ г переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 40 см^3 дистиллированной воды и после растворения доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Готовый раствор хранят в полиэтиленовой, полипропиленовой или резиновой таре при комнатной температуре не более 1 месяца.

10.4.3 Приготовление 70 %-го раствора метанола

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 мерным цилиндром вливают 350 см^3 метанола и 150 см^3 дистиллированной воды, тщательно перемешивают. Готовый раствор хранят в стеклянной ёмкости с плотно закрывающейся крышкой при комнатной температуре не более 3 месяцев.

Примечание – 70 %-ый раствор метанола готовят для проведения анализа с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин В1, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А, МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2, МУЛЬТИСКРИН Фумонизин, МУЛЬТИСКРИН Цитринин, МУЛЬТИСКРИН Патулин.

10.4.4 Приготовление 35 %-го раствора метанола

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 мерным цилиндром вливают 35 см^3 метанола и 65 см^3 дистиллированной воды, тщательно перемешивают. Готовый раствор хранят в стеклянной ёмкости с плотно закрывающейся крышкой при комнатной температуре не более 3 месяцев.

Примечание – 35 %-ый раствор метанола готовят для проведения анализа с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Т-2 Токсин.

10.4.5 Приготовление 0,05 М карбонат-бикарбонатного буфера с pH 9,6 - 9,8

Навески натрия углекислого массой 0,16 г и натрия углекислого кислого 0,30 г переносят в мерную колбу вместимостью 200 см^3 и растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, тщательно перемешивая. Проверить уровень pH индикаторной бумаги. Готовый раствор хранят в стеклянной ёмкости с плотно закрывающейся крышкой при комнатной температуре не более 1 недели.

Примечание – 0,05 М карбонат-бикарбонатного буфера с pH 9,6 - 9,8 готовят для проведения анализа с применением тест-системы МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А.

10.4.6 Приготовление 35 %-го раствора ортофосфорной кислоты

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 мерным цилиндром вливают 30 см^3 дистиллированной воды и 20 см^3 ортофосфорной кислоты по ГОСТ 6552, тщательно перемешивают. Готовый раствор хранят в стеклянной ёмкости с плотно закрывающейся крышкой при комнатной температуре не более 3 месяцев.

Примечание – 35 %-го раствор ортофосфорной кислоты готовят для проведения анализа с применением тест-системы МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А.

10.4.7 Приготовление рабочего раствора буфера для разведения проб

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят концентрат буфера для разведения проб и дистиллированную воду в соотношении 1:9, тщательно перемешивают,

не допуская образования пены. Раствор готовят непосредственно перед использованием, хранению не подлежит.

Примечание – рабочий раствор буфера для разведения проб готовят для проведения анализа с применением тест-системы МУЛЬТИСКРИН Патулин.

10.4.8 Приготовление рабочего раствора конъюгата

Рабочий раствор конъюгата готовят путём разведения концентрата раствором для разбавления конъюгата в соотношении, указанном в инструкции к применяемой тест-системе. Рабочий раствор конъюгата перемешивают круговыми движениями, не допуская образования пены. Объем рабочего раствора конъюгата должен быть приготовлен исходя из расчета 150 мм^3 раствора на каждую лунку. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

Примечания:

1 Для проведения анализа с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол конъюгат необходимо готовить из расчета 150 мм^3 раствора на каждую лунку.

2 Рабочий раствор конъюгата готовят для проведения анализа с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А, МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2.

3 При применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол и МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, соотношение концентрата к раствору для разбавления составляет 1:20 (в 21 раз), МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А и МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2 составляет 1:10 (в 11 раз).

10.4.9 Приготовление рабочего промывочного раствора

Перед началом приготовления рабочего промывочного раствора флакон с концентратом интенсивно встряхивают в течение 10-20 с. Раствор готовят в мерной колбе вместимостью 500 см^3, путём разбавления концентрата промывочного раствора дистиллированной водой в соотношении, указанном в инструкции к применяемой тест-системе. Готовый раствор хранят в стеклянной ёмкости с плотно закрывающейся крышкой при комнатной температуре не более 1 месяца.

Примечания:

1 В случае образования кристаллов флакон с концентратом промывочного раствора помещают на водяную баню при температуре 37 °С и выдерживают до полного растворения кристаллов.

2 Рабочий промывочный раствор готовят для проведения анализа с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин В1, МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А, МУЛЬТИСКРИН Патулин, МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2.

3 При применении наборов МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин В1, МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А и МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2 соотношение концентрата к дистиллированной воде составляет 1:9 (в 10 раз), МУЛЬТИСКРИН Патулин составляет 1:19 (в 20 раз).

4 Принимается допущение, что плотность растворов (солей, кислот и щелочей), используемых в настоящей методике, а также растворов (суспензий) исследуемых проб приравнивается к плотности воды, исходя из чего при приготовлении последующих разведений, следует учитывать, что массовые (м/м) и объемные (о/о) проценты принимаются равными.

10.4.10 Приготовление хромоген-субстратного раствора

Хромоген-субстратный раствор готовят путём разведения раствора ТМБ субстратным буферным раствором в 21 раз (1:20) в чистом темном стеклянном или пластмассовом флаконе интенсивно перемешивают в течение (30-40) с, из расчета 100 мм^3 раствора на каждую лунку. Раствор готовят непосредственно перед использованием и предохраняют от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Приготовленный раствор хранению не подлежит.

Примечание – Субстратный буферный раствор и раствор хромогена могут поставляться в одном флаконе в форме готового для использования компонента.

10.5 Подготовка экстрактов проб

10.5.1 Подготовка экстрактов проб зерновых, зернобобовых, масличных культур и продуктов их переработки, кормов

10.5.1.1 Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1, МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А, МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2, МУЛЬТИСКРИН Фумонизин

10.5.1.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры.

10.5.1.1.2 *Пробы зерна, зернобобовых, масличных, макаронных, крупяных изделий, продуктов переработки зерновых (отруби, жмыхи, шроты), кормов* измельчают на лабораторном гомогенизаторе или с помощью мельницы «Циклон» до получения однородной массы. Измельченную пробу при необходимости просеивают через сито размером отверстий 1000 мкм и тщательно перемешивают. Остаток пробы на сите снова измельчают на лабораторном гомогенизаторе или с помощью мельницы так, чтобы он весь прошел через сито с отверстиями диаметром 1000 мкм, далее добавляют к просеянной части и тщательно перемешивают.

10.5.1.1.3 *Пробы хлебобулочных изделий, кормовых продуктов пивоваренной продукции и спиртового производства* измельчают с помощью гомогенизатора, перемешивают. *Пробы мукомольных изделий, глютенов* – тщательно перемешивают

10.5.1.1.4 Взвешивают (5,0 ± 0,1) г измельченной пробы. Навеску исследуемой пробы помещают в коническую колбу вместимостью 100 см^3 и мерным цилиндром добавляют 25 см^3 70 %-го раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3, в соотношении пробы и объема экстрагирующей смеси 1:5 (при применении тест-системы

МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол используют дистиллированную воду в соотношении проба и объем экстрагирующей смеси 1:20).

10.5.1.1.5 Коническую колбу закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин.

10.5.1.1.6 Затем раствор выдерживают в течение 5-10 мин для осаждения частиц пробы и быстро фильтруют от 10 до 15 $см^3$ верхнего слоя в стеклянную пробирку или колбу через бумажный фильтр.

10.5.1.1.7 Контроль pH фильтрата проводят с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.1.1.8 Пробирку или колбу с фильтратом закрывают пробкой, профильтрованный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

10.5.1.2 Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Патулин и МУЛЬТИСКРИН Цитринин.

10.5.1.2 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры.

10.5.1.2.1 Твердые образцы измельчают на лабораторном гомогенизаторе или с помощью мельницы «Циклон» до получения однородной массы. Затем просеивают через лабораторное сито с отверстиями диаметром 1000 мкм. Остаток пробы на сите снова измельчают на лабораторном гомогенизаторе или с помощью мельницы так, чтобы он весь прошел через сито с отверстиями диаметром 1000 мкм, далее добавляют к просеянной части и тщательно перемешивают.

10.5.1.2.2 При работе с твердыми образцами взвешивают (5,0 ± 0,1) г измельченной пробы. Навеску исследуемой пробы помещают в коническую колбу вместимостью 100 $см^3$ и мерным цилиндром добавляют 25 $см^3$ 100 %-го метанола, в соотношении пробы и объема экстрагирующей смеси 1:4

Примечание – при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Цитринин используют коническую колбу вместимостью 50 $см^3$ и мерным цилиндром добавляют 12,5 $см^3$ 70 %-го метанола, приготовленного согласно с 10.4.3, в соотношении пробы и объема экстрагирующей смеси 1:25).

10.5.1.2.3 Коническую колбу закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на встряхивателе при 400 об/мин в течение 5-7 мин.

10.5.1.2.4 Далее экстракт переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют при 3500 g в течение 5 мин при комнатной температуре, либо дают экстракту отстояться в течение 5-10 мин для осаждения частиц, далее фильтруют в пробирку через бумажный фильтр.

10.5.1.2.5 Контроль pH фильтрата проводят индикаторной бумагой, доводя pH фильтрата до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.1.2.6 Пробирку закрывают пробкой, профильтрованный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

10.5.2 Подготовка экстрактов проб зеленых, сочных и грубых кормов

10.5.2.1 Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1, МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А, МУЛЬТИСКРИН Т-2 Токсин и МУЛЬТИСКРИН Фумонизин

10.5.2.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, затем высушивают до постоянной массы в сушильном шкафу, далее гомогенизируют на лабораторном гомогенизаторе или с помощью мельницы «Циклон» до получения однородной массы, при необходимости дополнительно просеивают через сито размером отверстий 1000 мкм и тщательно перемешивают.

10.5.2.1.2 Взвешивают (5,0 ± 0,1) г измельченной пробы. Навеску исследуемой пробы помещают в пробирку для центрифугирования вместимостью 50 $см^3$ и мерным цилиндром добавляют 25 $см^3$ 70 %-го раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3, в соотношении пробы и объема экстрагирующей смеси 1:5.

Примечание – при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол используют дистиллированную воду в соотношении проба и объем экстрагирующей смеси 1:20.

10.5.2.1.3 Пробирку для центрифугирования закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин. Содержимое в пробирке центрифугируют в течение 10 мин при 4000 g и температуре 20 – 25 °С.

10.5.2.1.4 Затем переносят надосадочную жидкость в пробирку или колбу и проводят контроль pH с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.2.1.5 Пробирку или колбу закрывают пробкой, профильтрованный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

10.5.2.2 Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Патулин и МУЛЬТИСКРИН Цитринин.

10.5.2.2.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, затем высушивают до постоянной массы в сушильном шкафу, далее гомогенизируют на лабораторном гомогенизаторе или с помощью мельницы «Циклон» до получения однородной массы, при необходимости дополнительно просеивают через сито размером отверстий 1000 мкм и тщательно перемешивают. Повторяют процедуры в соответствии с п. 10.5.1.2.2 – 10.5.1.2.6

10.5.3 Подготовка экстрактов проб орехов

10.5.3.1 Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА с применением тест-системы МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1

10.5.3.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, измельчают на лабораторном гомогенизаторе или с помощью мельницы «Циклон» до получения однородной массы, тщательно перемешивают.

10.5.3.1.2 Взвешивают (2,5 ± 0,1) г измельченной пробы. Навеску исследуемой пробы помещают в пробирку для центрифугирования вместимостью 50 $см^3$. Добавляют навеску 1,25 г хлорида натрия, перемешивают, затем вносят мерным цилиндром 12,5 $см^3$ 70 %-го раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3, добавляют 5,0 $см^3$ гексана.

10.5.3.1.3 Пробирку для центрифугирования закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин. Содержимое в пробирке центрифугируют в течение 10 мин при 4000 g и температуре 20 – 25 °С.

10.5.3.1.4 Удаляют верхний слой жира и гексана с помощью пастеровской пипетки, затем переносят надосадочную жидкость в пробирку или колбу и проводят контроль pH с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.3.1.5 Пробирку или колбу с фильтратом закрывают пробкой, профильтрованный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

Примечание – при анализе орехов с высоким содержанием масел проводят следующие операции:

1. Отбирают навеску (2,0 ± 0,1) г измельченной пробы. Навеску помещают в пробирку для центрифугирования вместимостью 50 $см^3$. Добавляют 4,0 $см^3$ дистиллированной воды, 16,0 $см^3$ хлористого метилена по ГОСТ 9968.

2. Пробирку для центрифугирования закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин.

3. Содержимое в пробирке центрифугируют в течение 10 мин при 4000 g и температуре 20 – 25 °С. Отбирают 4,0 см^3 органического слоя (нижний над осадком) в чистую центрифужную полипропиленовую (стеклянную) пробирку вместимостью 15,0 см^3 и полностью выпаривают 4,0 см^3 органического экстракта в слабом токе азота при (50 – 55) °С. Затем осадок растворяют в 2,5 см^3 70 %-го раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3, добавляют 4,0 см^3 гексана.

4. Пробирку для центрифугирования закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, повторно встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин, затем вновь центрифугируют в течение 10 мин при 4000 g и температуре 20 – 25 °С.

5. Удаляют верхний слой гексана с помощью пастеровской пипетки и переносят метанольный экстракт в пробирку и проводят контроль pH с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

6. Полученный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

10.5.4 Подготовка экстрактов проб пищевых растительных масел

10.5.4.1 Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА с применением тест-системы МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1

10.5.4.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, отбирают навеску (1,0 ± 0,1) г, помещают в пробирку для центрифугирования вместимостью 15,0 см^3. Вносят мерным цилиндром 4,0 см^3 70 %-го раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3, добавляют 4,0 см^3 гексана.

10.5.4.1.2 Пробирку для центрифугирования закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин. Содержимое в пробирке центрифугируют в течение 10 мин при 4000 g и температуре 10 °С.

10.5.4.1.3 Удаляют верхний слой жира и гексана с помощью пастеровской пипетки и переносят метанольный экстракт в пробирку и проводят контроль pH с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.4.1.4 Полученный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

10.5.5 Подготовка экстрактов проб сушеных мяса или рыбы

10.5.5.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон

10.5.5.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, отбирают навеску (5,0 ± 0,1) г, измельчают, помещают в пробирку для центрифугирования вместимостью 50,0 см^3. Вносят мерным цилиндром 25,0 см^3 70 %-го

раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3 (при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1 дополнительно вносят 10,0 $см^3$ гексана).

10.5.5.1.2 Пробирку для центрифугирования закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин. Содержимое в пробирке центрифугируют в течение 10 мин при 4000 g и температуре 20 – 25 °С.

Примечание – при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1 сначала удаляют верхний слой жира и гексана с помощью пастеровской пипетки.

10.5.5.1.3 Переносят метанольный экстракт в пробирку и проводят контроль pH с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.5.1.4 Полученный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

10.5.6 Подготовка экстрактов проб пива и пивного сусла

10.5.6.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А и МУЛЬТИСКРИН Фумонизин

10.5.6.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, после тщательно перемешивают. Перед проведением анализа аликвота исследуемого пробы должна быть предварительно дегазирована умеренным нагревом при температуре 20 – 25 °С до исчезновения пузырьков газа. Если отобранная проба является нефильтрованным пивом или суслом, то перед дегазированием необходимо предварительно отфильтровать пробу через бумажный фильтр.

Таблица 5 – Внесение аликвот экстрактов проб пива и экстрагирующих растворов

Выбираемые параметры	МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол	МУЛЬТИСКРИН Зеараленон	МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А	МУЛЬТИСКРИН Фумонизин
Объем аликвоты для экстракции, $см^3$	2,0 $см^3$,	1,0 $см^3$,	3,0 $см^3$,	1,0 $см^3$,
Объем аликвоты экстрагента, $см^3$	40,0 $см^3$ дистиллированной воды	4,0 $см^3$ 35 %-го метанола	5,7 $см^3$ 100 %-го метанола	49,0 $см^3$ дистиллированной воды
Тип пробирки (объем пробирки, $см^3$)	мерная колба или пробирка (50,0)	мерная колба или пробирка (15,0)	мерная колба или пробирка (15,0)	мерная колба или пробирка (50,0)

В зависимости от применяемой тест системы отбирают аликвоту пробы и экстрагирующего раствора в соответствии с таблицей 5.

10.5.6.1.2 Затем мерную колбу или пробирку закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин.

10.5.6.1.3 Далее содержимое пробирки доводят до значения pH 6,5-7,5 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.6.1.4 Полученный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение 2 ч.

Примечание –тест-систему МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А применяют также для анализа проб вина (красного и белого) и виноградного сока согласно 10.5.6.

10.5.6.2 Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА с применением тест-систем МУЛЬТИСКРИН Патулин и МУЛЬТИСКРИН Цитринин.

10.5.6.2.1 При работе с жидкими образцами (5,0 ± 0,1) $см^3$ аликвоты пробы помещают в коническую колбу вместимостью 100 $см^3$ и мерным цилиндром вносят 20,0 $см^3$ 100,0 %-го метанола. Важно соблюдать соотношение объема пробы и объема экстрагирующей смеси 1:4. (возможно уменьшение объема образца при пропорциональном уменьшении объема метанола). Повторяют процедуры в соответствии с п. 10.5.1.2.2 – 10.5.1.2.6

10.5.7 Подготовка экстрактов проб сухого молока

10.5.7.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Зеараленон

10.5.7.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, после тщательно перемешивают. Пробы сухого молока восстанавливают в соответствии с ГОСТ 29245. Затем отбирают навеску пробы сухого обезжиренного молока массой (0,9 ± 0,1) г, или (1,2 ± 0,1) г и (1,25 ± 0,1) г сухого цельного молока с содержанием жира 20 % и 25 %, соответственно, или (1,0 ± 0,1) г сухого цельного молока с содержанием жира, отличным от перечисленного выше, помещают в пробирку для центрифугирования вместимостью 15,0 см^3, приливают нагретую до (40 ± 2) °С дистиллированную воду небольшими порциями для равномерного распределения сухой пробы в пробирке.

10.5.7.1.2 Пробирку для центрифугирования закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин до полного растворения сухого вещества.

10.5.7.1.3 После остывания пробы добавить до 10,0 см^3 дистиллированной воды, тщательно перемешать. Оставить пробу в восстановленном виде на 15 минут.

Далее проводят процедуру обезжиривания восстановленного молока путём центрифугирования проб в режиме: при 3000 g и температуре 10 °С в течение 10 мин. При отсутствии центрифуги с охлаждением, необходимо перед центрифугированием выдержать пробы в морозильной камере холодильника в течение (10 - 15) мин, охлаждая пробы молока до температуры (2 ± 4) °С. После центрифугирования шпателем удаляют верхний жировой слой.

Примечание – для проб обезжиренного молока процедуру по удалению жира не проводят.

10.5.7.1.4 В отдельные пробирки вместимостью 15,0 см^3 отбирают 1,0 см^3 обезжиренного молока, мерным цилиндром добавляют 4,0 см^3 35 %-го раствора метанола, приготовленного согласно 10.4.4, пробирку закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают на лабораторном встряхивателе.

10.5.7.1.5 Приготовленные экстракты пробы используют для проведения ИФА в течение 1 ч

10.5.8 Подготовка экстрактов проб сырого молока

10.5.8.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Зеараленон

10.5.8.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры. Пробы молока сырого, стерилизованного и пастеризованного тщательно перемешивают, не допуская вспенивания, отбирают по 10,0 $см^3$ в чистые центрифужные пробирки вместимостью 15,0 $см^3$.

10.5.8.1.2 Далее проводят процедуру обезжиривания восстановленного цельного и сырого молока путём центрифугирования проб в режиме: при 3000 g и температуре 10 °С в течение 10 мин. При отсутствии центрифуги с охлаждением, необходимо перед центрифугированием выдержать пробы в морозильной камере холодильника в течение (10 - 15) мин, охлаждая пробы молока до температуры 2 – 4 °С. После центрифугирования шпателем удаляют верхний жировой слой.

Примечание – для экстрактов проб обезжиренного молока процедуру по удалению жира не проводят.

10.5.8.1.3 В отдельные пробирки вместимостью 15,0 $см^3$ отбирают 1,0 $см^3$ обезжиренного молока, мерным цилиндром 4,0 $см^3$ 35 %-го раствора метанола, приготовленного согласно 10.4.4, пробирку закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают на лабораторном встряхивателе.

10.5.8.1.4 Приготовленные экстракты пробы используют для проведения ИФА в течение 1 ч.

10.5.9 Подготовка экстрактов проб обжаренного молотого и растворимого кофе

10.5.9.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А

10.5.9.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры. Взвешивают навеску массой (5,0 ± 0,1) г и помещают в коническую колбу вместимостью 100,0 $см^3$, добавляют 25,0 $см^3$ хлористого метилена по ГОСТ 9968 и 125 $мм^3$ 35 %-й ортофосфорной кислоты, приготовленной по 10.4.6.

10.5.9.1.2 Коническую колбу или пробирку закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 15 мин, далее фильтруют через бумажный фильтр.

10.5.9.1.3 Отбирают 5,0 $см^3$ фильтрата в чистую центрифужную полипропиленовую пробирку вместимостью 15,0 $см^3$, добавляют 1,65 $см^3$ карбонат-бикарбонатного буфера,

приготовленного по 10.4.5, центрифугируют в течение 5 мин при 4000 g и температуре 20 – 25 °С.

10.5.9.1.4 Переносят 0,5 см^3 верхнего (водного) слоя в чистую стеклянную пробирку, добавляют 1 см^3 100 %-го метанола, закрывают пробкой, раствор перемешивают и используют для проведения анализа в течение 2 ч.

10.5.10 Подготовка экстрактов проб сухофруктов

10.5.10.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-системы МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А

10.5.10.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры. Взвешивают навеску массой (5,0 ± 0,1) г, гомогенизируют на лабораторном гомогенизаторе до получения однородной массы, тщательно перемешивают.

10.5.10.1.2 Помещают навеску в коническую колбу вместимостью 100,0 см^3, вносят мерным цилиндром 25,0 см^3 70 %-го раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3. Необходимо соблюдать соотношение пробы и объема экстрагирующей смеси 1:5.

10.5.10.1.3 Коническую колбу закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин, далее фильтруют через бумажный фильтр.

10.5.10.1.4 Проводят контроль pH с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.10.1.5 Раствор перемешивают и используют для проведения анализа в течение 2 ч.

10.5.11 Подготовка экстрактов проб продуктов для детского питания

10.5.11.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2 и МУЛЬТИСКРИН Фумонизин

10.5.11.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, пробы муки, сухих каш и консервов тщательно перемешивают, пробы хлебобулочных, кулинарных, мучных кондитерских гомогенизируют на лабораторном гомогенизаторе до получения однородной массы и перемешивают.

10.5.11.1.2 Взвешивают навеску массой (5,0 ± 0,1) г, помещают в центрифужные пробирки вместимостью 50,0 см^3, вносят мерным цилиндром 25,0 см^3 70 %-го раствора метанола, приготовленного согласно с 10.4.3. Важно соблюдать соотношение пробы и объема экстрагирующей смеси 1:5.

10.5.11.1.3 Пробирку закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают на лабораторном встряхивателе при 150 об/мин в течение 5-7 мин, далее фильтруют через бумажный фильтр.

10.5.11.1.4 Центрифугируют в течение 10 мин при 4000 g и температуре 20 – 25 °С.

10.5.11.1.5 Затем переносят надосадочную жидкость в пробирку или колбу и проводят контроль pH с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения pH 6-8 используя концентрированную соляную кислоту по ГОСТ 3118 или 20 %-ый раствор гидроксида натрия, приготовленного по 10.4.2.

10.5.11.1.6 Раствор перемешивают и используют для проведения анализа в течение 2 ч.

10.5.12 Подготовка экстрактов проб ягод, фруктов и овощей

10.5.12.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Патулин и МУЛЬТИСКРИН Цитринин.

10.5.12.1.1 Отобранную пробу в соответствии с 10.1.1 доводят до комнатной температуры, затем измельчают до пастообразной консистенции.

Повторяют процедуры в соответствии с п. 10.5.1.2.2 – 10.5.1.2.6

10.6 Подготовка приготовленных экстрактов проб для анализа

10.6.1 Подготовка экстрактов проб при применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2, МУЛЬТИСКРИН Фумонизин

10.6.1.1 Экстракты проб, приготовленные в соответствии с 10.5, необходимо дополнительно подготовить для проведения ИФА согласно таблице 6.

Таблица 6 – Подготовка экстрактов проб для проведения ИФА

<table>
<tr><td>Объем вводимого компонента, см^3</td><td>МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин B_1</td><td>МУЛЬТИСКРИН Зеараленон</td><td>МУЛЬТИСКРИН Фумонизин</td><td>МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2</td></tr>
<tr><td>Экстракт пробы, см^3</td><td>0,5 см^3,</td><td>0,05 см^3</td><td>0,1 см^3</td><td>0,5 см^3,</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Растворителя, см^3</td><td rowspan="2">0,5 см^3 промывочного буфера</td><td>0,05 см^3 дистиллированной воды и 0,9 см^3 35 %-го метанола</td><td rowspan="2">0,9 см дистиллированной воды</td><td rowspan="2">0,5 см^3 дистиллированной воды и 3,0 см^3 35 %-го метанола</td></tr>
<tr><td>При анализе проб пива и молока 0,95 см^3 35 %-го метанола</td></tr>
</table>

Примечание – при применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Дезоксиниваленол, МУЛЬТИСКРИН Охратоксин А, МУЛЬТИСКРИН Патулин, МУЛЬТИСКРИН Фумонизин и МУЛЬТИСКРИН Цитринин дополнительная подготовка приготовленных экстрактов проб не требуется.

XI. ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

11.1 Условия выполнения измерений – по разделу 9.

11.2 Калибровка и измерение проводятся одновременно в рамках проведения одной серии анализов.

11.3 В рамку планшета для смешивания, подготовленного по 10.4, помещают необходимое для проведения измерений количество стрипов из расчета: 10 или 12 лунок для градуировочных растворов и необходимое количество лунок для исследуемых проб с учетом проведения двух параллельных определений (максимальное количество исследуемых проб в двух дублях – 42 или 43). Записывают положение лунок с градуировочными растворами и исследуемыми пробами на бланке планшета.

11.4 В соответствующие пары лунок вносят конъюгат по 100 мм^3 градуировочных растворов и по 100 мм^3 экстрактов проб, подготовленных по 10.5.

Примечание – при применении тест-систем МУЛЬТИСКРИН Афлатоксин В1, МУЛЬТИСКРИН Зеараленон, МУЛЬТИСКРИН Токсин Т-2, МУЛЬТИСКРИН Фумонизин используют экстракты проб приготовленные в соответствии с 10.6

Таблица 7 – Последовательность выполнения измерений

№	Последовательность выполнения измерений	**Наименование набора реагентов**							
		AB_1	**ДОН**	**Зеараленон**	**ОТА**	**Патулин**	**Токсин Т-2**	**Фумонизин**	**Цитринин**
1.1	В пары лунок планшета для смешивания вносят конъюгат, или рабочий раствор конъюгата или буфер для разведения или дистиллированную воду объемом $V_{к.}$	Объем вводимого раствора ($V_к$, мм^3) равен							
		100 конъюгата	*150 рабочего р-ра конъюгата*	*100 рабочего р-ра конъюгата*	*100 рабочего р-ра конъюгата*	*100 буфера для разведения*	*100 рабочего р-ра конъюгата*	*100 конъюгата*	*100 воды*
1.2	В пары лунок планшета для смешивания вносят градуировочные растворы в порядке возрастания их концентраций, объемом $V_{г.р.}$	Объем градуировочных растворов ($V_{г.р.}$, мм^3) равен							
		50	*50*	*50*	*50*	не применимо	*50*	*100*	не применимо
1.3	В пары лунок планшета для смешивания вносят экстракт исследуемой, объемом, содержимое перемешивают путём пипетирования вверх и вниз 3-4 раза, не допуская образования пены, $V_{и.п.}$	Объем экстракта исследуемой пробы ($V_{и.п.}$, мм^3) равен							
		50	*50*	*50*	*50*	*100*	*50*	*100*	*100*
2.1	В пары лунок микропланшетного иммуносорбента (далее – планшет) вносят градуировочные растворы в порядке возрастания их концентраций, объемом $V_{г.р.}$	Объем градуировочных растворов ($V_{г.р.}$, мм^3) равен							
		не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	*100*	не применимо	не применимо	*50*
2.2	Во все используемые лунки планшета вносят содержимое лунок планшета для смешивания $V_{г.с}$	Объем содержимого ($V_{г.с.}$, мм^3) равен							
		100	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*	*50*
2.3	Во все используемые лунки планшета вносят конъюгат в течение не более 2 мин, $V_к$	Объем конъюгата ($V_к$, мм^3) равен							
		не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	*50*	не применимо	не применимо	не применимо
2.3	Во все используемые лунки планшета вносят антитела в течение не более 2 мин, $V_к$	Объем антител ($V_к$, мм^3) равен							
		не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	*50*
Заклеивают лунки, находящиеся на поверхности микропланшета парафильмом или крышкой									
3	Инкубируют в термостате или на воздухе в темноте, при температуре (20 ± 25) °С в течение *t*.	Время инкубации (*t*, минут) равно							
		20	*30*	*15*	*10*	*60*	*30*	*15*	*10*
4	По окончании инкубации растворы из всех лунок удаляют путем резкого переворачивания планшета. Затем промывают лунки *n* раза по $V_{р-р}$ каждую рабочим промывочным раствором (приготовленным согласно п. 10.4.9) или дистиллированной или деионизированной водой.	Количество отмывок (*n*, раз) равно							
		4	*4*	*4*	*4*	*4*	*4*	*4*	*3*
		Объем раствора для промывки лунок ($V_{р-р}$, мм^3) равен							
		200	*200*	*200*	*200*	*250*	*200*	*200 воды*	*250 воды*
5.1	Во все используемые лунки планшета вносят конъюгат в течение не более 2 мин, $V_к$	Объем конъюгата ($V_к$, мм^3) равен							
		не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	*100*

Продолжение таблицы 7

№	Последовательность выполнения измерений	Наименование набора реагентов							
		AB_1	**ДОН**	**Зеараленон**	**ОТА**	**Патулин**	**Токсин Т-2**	**Фумонизин**	**Цитринин**
5.2	Инкубируют в термостате или на воздухе в темноте, при температуре (20 ± 25) °С в течение *t*.	Время инкубации (*t*, минут) равно							
		не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	*10*
5.3	По окончании инкубации растворы из всех лунок удаляют путем резкого переворачивания планшета. Затем промывают лунки *n* раза по $V_{р-р}$ каждую дистиллированной или деионизированной водой.	Количество отмывок (*n*, раз) равно							
		не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	*3*
		Объем раствора для промывки лунок ($V_{р-р}$, мм^3) равен							
		не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	не применимо	*250*
6	Во все и лунки микропланшета вносят хромоген-субстратный раствор (приготовленный по п. 10.4.10 или готовый) объемом V_{XC}., в течение не более 2 мин, заклеивают лунки парафильмом или крышкой	Объем хромоген-субстратного раствора (V_{XC}, мм^3) равен							
		100	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*
7	Микропланшет инкубируют в термостате или инкубаторе в течение в течение *t* в темноте при температуре (20 ± 25) °С	Время инкубации (*t*, минут) равно							
		5	*15*	*5*	*5*	*20*	*15*	*5*	*5*
8	Во все лунки микропланшета вносят по стоп-реагент объемом $V_{стоп}$, при этом цвет содержимого лунок меняется с голубого окрашивания на желтое	Объем стоп-реагента ($V_{стоп}$, мм^3) равен							
		100	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*	*100*

Примечания:

1 Рекомендуется перед внесением в лунки микропланшетного иммуносорбента конъюгата, рабочего раствора конъюгата, буфера для разведения, дистиллированную и деионизированную воду и хромоген-субстратного раствора, внести данные растворы в чашки Петри или специальную пластмассовую кюветы для удобства внесения и сохранения срока годности реактивов, входящих в состав тест-систем.

2 Временной интервал от начала перемешивания до начала инкубирования – не более 2 мин, чтобы минимизировать возможные артефакты, обусловленные разным временем протекания иммунохимической реакции в первых и последних стрипах.

3 При промывании планшета необходимо контролировать заполнение всех лунок и полное удаление жидкости; не допуская переполнения лунок и перетекания промывочного раствора между ними. Остатки жидкости удаляют, постукивая планшетом по ровной поверхности, покрытой фильтровальной бумагой.

11.5 На спектрофотометре при длине волны 450 нм проводят измерения оптической плотности (ОП) содержимого лунок. Измерение оптической плотности содержимого лунок планшета не должно превышать 15 минут после внесения стоп-реагента.

XII. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

12.1 Для расчета результатов измерений используют специализированный шаблон таблиц в формате *Microsoft Excel*, рекомендованный изготовителем тест-набора. или программное обеспечение стороннего производителя (например, встроенное программное обеспечение микропланшетного фотометра), после внесения необходимых параметров данного ИФА. Пример стандартной градуировочной кривой представлен в паспорте качества, входящем в комплект тест-набора.

На основании параллельных определений оптической плотности для градуировочных проб, внесенных оператором в соответствующие графы таблиц специализированного шаблона по 12.1, программа строит градуировочный график и рассчитывает его параметры.

Градуировочная зависимость должна иметь вид

$$y = a - b \cdot x \qquad (1)$$

где $y = \lg \dfrac{B_i / B_0}{(1 - B_i / B_0)} = \lg it(B_i / B_0)$;

$x = \lg C_i$;

a, b – коэффициенты линейной регрессии, рассчитываемые методом наименьших квадратов на основании пар значений $(B_i - B_0)$ и C_i, полученных для пяти градуировочных растворов при *i* = 1...5;

B_i – оптическая плотность *i*-ого градуировочного раствора;

B_0 – оптическая плотность градуировочного раствора с массовой долей микотоксина 0 мкг/кг (мг/кг);

C_i – массовая доля микотоксина в *i*-ом градуировочном растворе (мкг/кг (мг/кг)).

ПО *Microsoft Exel* по специализированному шаблону таблиц, на основании градуировочной зависимости, автоматически рассчитывает массовую долю анализируемого микотоксина (W, мкг/кг (мг/кг)) в исследуемых пробах с учетом фактора разведения при подготовке экстрактов проб к анализу по 10.5.

Массовую долю анализируемого микотоксина в пробах рассчитывают на основании результатов измерений оптической плотности раствора исследуемой пробы, коэффициентов линейной регрессии и фактора разведения по формуле (2) и (3)

$$\lg W_i = \frac{a - \lg it(\frac{B_c}{B_0})}{b}, \quad (2)$$

$$W_i = 10^{\lg W_i} \cdot F \quad (3)$$

где W_i – массовая доля анализируемого микотоксина в исследуемой пробе, мкг/кг (мг/кг);

B_C – оптическая плотность исследуемой пробы, мкг/кг (мг/кг);

B_0 – оптическая плотность пробы W_0, где массовая доля анализируемого микотоксина 0,00 мкг/кг (мг/кг);

F – фактор разведения при приготовлении экстрактов проб по п. 10.5.

Примечание – фактор разведения используется в (2) при расчете результатов, полученных при применении набора МУЛЬТИСКРИН Патулин, а также при анализе вина, пива, виноградного сока набором МУЛЬТИСКРИН Охратоксин. Значения факторов разведения указаны в инструкциях к соответствующим наборам.

Градуировочная зависимость, полученная при работе с набором МУЛЬТИСКРИН токсин Т-2 аппроксимируется кусочно-линейной функцией, заданной на каждом интервале функциональной зависимости, где $y = B_i/B_0$, *а* $x = \ln C_i$

12.2 За результат измерений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе ($\overline{W}$, мкг/кг (мг/кг)) принимают среднее арифметическое значение двух результатов параллельных определений по (4)

$$\overline{W} = \frac{W_1 + W_2}{2}, \quad (4)$$

при выполнении условия (5)

$$\frac{2 \cdot |W_1 - W_2| \cdot 100}{W_1 + W_2} \le r_0, \quad (5)$$

где W_1, W_2 – результаты двух параллельных определений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе, мкг/кг (мг/кг);

r_0 – значение предела повторяемости в зависимости анализируемого микотоксина по таблице 8, %.

Если относительное расхождение превышает предел повторяемости r_0, необходимо получить еще два результата.

Если относительный размах (6) результатов четырех параллельных определений меньше или равен по значению критическому диапазону $CR_{0,95}(4)$ для уровня вероятности

95 % и числа определений $n = 4$

$$\frac{4 \cdot |W_{max} - W_{min}| \cdot 100}{W_1 + W_2 + W_3 + W_4} \le CR_{0,95}(4), \quad (6)$$

где W_{max}, W_{min} – максимальный и минимальный результат из четырех параллельных определений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе, мкг/кг (мг/кг), то в качестве окончательного результата измерений ($\overline{W}$, мкг/кг (мг/кг)) указывают среднее арифметическое значение результатов четырех параллельных определений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе по (7)

$$\overline{W} = \frac{W_1 + W_2 + W_3 + W_4}{4}. \quad (7)$$

Значения критического диапазона представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Пределы повторяемости, воспроизводимости, критический диапазон в относительной форме при доверительной вероятности P = 0,95

Наименование (обозначение) микотоксина	Предел повторяемости, r_0, %	Предел воспроизводимости, R_0, %	Критический диапазон, $CR_{0,95}(4)$, %
AB_1	25	28	33
ДОН	28	30	36
Зеараленон	25	28	33
ОТА	25	28	33
Патулин	22	30	29
Токсин Т-2	25	28	33
Фумонизины [1]	19	25	25
Цитринин	39	42	51
[1]с пересчетом на фумонизин B_1			

12.3 Если относительный размах результатов четырех параллельных определений больше критического диапазона по (6), результат измерений рассчитывают как медиана по (8)

$$\overline{W} = \frac{W_{(2)} + W_{(3)}}{2}, \quad (8)$$

где $W_{(2)}$ – второй наименьший результат из четырех параллельных определений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе, мкг/кг (мг/кг);

$W_{(3)}$ – третий наименьший результат из четырех параллельных определений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе, мкг/кг (мг/кг);

При этом выясняют и устраняют причины появления неприемлемых результатов параллельных определений.

Примечание – Наиболее частой причиной превышения пределов повторяемости при измерении массовой доли анализируемого микотоксина является перекрестная контаминация экстрактов проб.

XIII. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

13.1 Результат измерений массовой доли анализируемого микотоксина ($\overline{W}$, мкг/кг (мг/кг)) в исследуемых пробах, мкг/кг (мг/кг) представляют в виде (9)

$$\overline{W} \pm \Delta \text{ (при } k = 2\text{), мкг/кг (мг/кг),} \quad (9)$$

где $\overline{W}$ – результат измерений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе, мкг/кг (мг/кг);

Δ – значение абсолютной погрешности результата измерений массовой доли анализируемого микотоксина при P = 0,95, мкг/кг (мг/кг), рассчитываемое по формуле (10)

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \overline{W}}{100}, \quad (10)$$

где $\overline{W}$ – результат измерений массовой доли анализируемого микотоксина в исследуемой пробе, мкг/кг (мг/кг);

δ – значение показателя точности (относительной погрешности) по таблице 1, %.

13.2 Значение абсолютной погрешности измерений округляют до двух значащих цифр. Числовое значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение погрешности.

13.3 В случае, если окончательный результат измерений находится выше или ниже границ диапазона измерений, то расчет массовой доли анализируемого микотоксина не проводят, результат оформляют в виде $\overline{W} \le W_{LOQ}$, где W_{LOQ} – нижняя граница диапазона измерений, мкг/кг (мг/кг), либо $\overline{W} \ge W_{HOQ}$, где W_{HOQ} – верхняя граница диапазона измерений, мкг/кг (мг/кг).

XIV. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

14.1 Контроль прецизионности результатов измерений массовой доли анализируемого микотоксина осуществляют в условиях внутрилабораторной прецизионности на основании результатов измерений массовой доли анализируемого микотоксина при реализации методики измерений в лаборатории путём оценки показателя внутрилабораторной прецизионности. Показатель внутрилабораторной прецизионности может быть оценен с применением стандартных образцов состава анализируемого микотоксина или реактива анализируемого микотоксина с массовой долей основного вещества не менее 95,00 %, рабочих проб с оформлением протокола установления показателей прецизионности результатов измерений с учетом положений, установленных в Приложении А РМГ 76 и не должен превышать значений показателя прецизионности в условиях воспроизводимости согласно таблице 1 настоящей методики измерений.

Оперативный контроль показателя прецизионности осуществляется внутри лаборатории путем оценивания показателей приемлемости, повторяемости и смещения (при контроле правильности с применением стандартных образцов состава анализируемого микотоксина или реактива анализируемого микотоксина с массовой долей основного вещества не менее 95,00 %) с периодичностью, установленной в конкретной лаборатории.

14.2 Контроль погрешности результатов измерений массовой доли анализируемого микотоксина с применением образцов для контроля

Контроль погрешности результатов измерений массовой доли анализируемого микотоксина проводят в соответствии с 5.5 РМГ 76 с применением образцов для контроля (далее – ОК) по Приложению Б настоящей методики измерений.

При реализации контрольной процедуры получают результат контрольного измерения массовой доли анализируемого микотоксина в ОК $\overline{W}$ и сравнивают его с аттестованным значением A.

Результат контрольной процедуры (K_k, мг/см^3) рассчитывают по формуле (11)

$$K_k = \bar{X} - A. \tag{11}$$

Норматив контроля (K, мг/см^3) рассчитывают по формуле (12)

$$K = \Delta, \tag{12}$$

где Δ – значение абсолютной погрешности результата измерений массовой доли анализируемого микотоксина при P = 0,95, рассчитываемое по формуле (10), мкг/кг (мг/кг).

Сопоставляют результат контрольной процедуры с нормативом контроля. Если результат контрольной процедуры удовлетворяет требованиям (13)

$$\left|K_k\right| \leq K, \tag{13}$$

то процедуру анализа признают удовлетворительной.

В случае невыполнения условия (13) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении этого условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

14.3 Результаты измерений, полученные при контроле погрешности результатов измерений, могут быть использованы при реализации контроля стабильности результатов измерений массовой доли анализируемого микотоксина. Процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(обязательное)

Область применения методики измерений

Таблица А.1 – Область применения

Код ОКПД2	Объект измерений
01.11.1	Пшеница
01.11.2	Кукуруза
01.11.3	Ячмень, рожь и овес
01.11.4	Сорго, просо и прочие зерновые культуры
01.11.5	Солома и мякина зерновых культур
01.11.6	Овощи бобовые зеленые
01.11.7	Овощи бобовые сушеные (культуры зернобобовые)
01.11.8	Бобы соевые, орехи земляные, семена хлопка
01.11.9	Семена льна, горчицы, рапса, сурепицы, кунжута, подсолнечника и семена прочих масличных культур, не включенные в другие группировки
01.12	Рис нешелушеный
01.19.10.190	Культуры кормовые, не включенные в другие группировки
01.25.3	Орехи, кроме лесных съедобных орехов, земляных орехов и кокосовых орехов
01.41.20.110	Молоко сырое коровье
10.13.11	Свинина соленая, в рассоле, копченая, сушеная (в том числе сублимационной сушки)
10.13.12	Мясо крупного рогатого скота соленое, в рассоле, копченое, сушеное (в том числе сублимационной сушки)
10.13.13	Мясо и мясные пищевые субпродукты прочие, соленые, в рассоле, копченые, сушеные (в том числе сублимационной сушки) (кроме мяса свиней и крупного рогатого скота); мясо птицы сухое, мука тонкого и грубого помола из мяса и мясных субпродуктов, пригодная для употребления в пищу
10.20.23.130	Рыба сушеная
10.32.1	Соки из фруктов и овощей
10.39.25.131	Виноград сушеный (изюм)
10.39.3	Сырье растительное, отходы и остатки растительные, продукты побочные
10.41	Масла и жиры

10.51.22.110	Молоко (частично обезжиренное, цельное) сухое
10.51.22.111	Молоко сухое частично обезжиренное, от более 1,5% до менее 26,0% жирности
10.51.22.112	Молоко сухое цельное, от 26,0% до 41,9% жирности
10.61	Продукция мукомольно-крупяного производства
10.61.32	Крупа, мука грубого помола и гранулы из зерновых культур, не включенные в другие группировки
10.61.33	Продукты зерновые для завтрака и прочие продукты из зерновых культур
10.62.1	Крахмалы и крахмалопродукты; сахар и сахарные сиропы, не включенные в другие группировки
10.71	Изделия хлебобулочные; мучные кондитерские изделия, торты и пирожные недлительного хранения
10.72	Изделия сухарные и печенье; мучные кондитерские изделия, торты и пирожные длительного хранения
10.73	Изделия макаронные, кускус и аналогичные мучные изделия
10.81.20	Жом свекловичный, багасса и прочие побочные продукты сахарного производства
10.83.11	Кофе без кофеина и кофе жареный
10.86.10.123	Каши молочные, готовые к употреблению, для детей раннего возраста
10.86.10.136	Каши молочные сухие (восстанавливаемые до готовности в домашних условиях путем разведения питьевой водой) для детей раннего возраста
10.86.10.230	Соки, нектары, напитки сокосодержащие овощные и овощефруктовые для детского питания
10.86.10.231	Соки овощные и овощефруктовые для детского питания
10.86.10.232	Нектары овощные и овощефруктовые для детского питания
10.86.10.233	Напитки сокосодержащие овощные и овощефруктовые для детского питания
10.86.10.240	Консервы для детского питания на фруктовой и фруктово-овощной основе; продукция соковая из фруктов и фруктово-овощная для детского питания
10.86.10.241	Консервы на фруктовой и фруктово-овощной основах гомогенизированные для детского питания
10.86.10.242	Консервы на фруктовой и фруктово-овощной основах протертые для детского питания
10.86.10.243	Соки фруктовые и фруктово-овощные для детского питания
10.86.10.245	Напитки сокосодержащие фруктовые и фруктово-овощные для детского питания
10.86.10.246	Нектары фруктовые и фруктово-овощные для детского питания
10.86.10.247	Морсы для детского питания

10.86.10.249	Консервы для детского питания на фруктовой и фруктово-овощной основе; продукция соковая из фруктов и фруктово-овощная для детского питания прочие
10.86.10.400	Продукция для детского питания на зерновой основе
10.86.10.650	Изделия кулинарные мясные, мясосодержащие и из мяса и субпродуктов птицы для детского питания
10.86.10.651	Изделия кулинарные мясные для детского питания
10.86.10.652	Изделия кулинарные мясосодержащие для детского питания
10.86.10.653	Изделия кулинарные из мяса и субпродуктов птицы для детского питания
10.86.10.682	Консервы мясо-растительные с использованием мяса птицы для детского питания
10.86.10.683	Консервы растительно-мясные с использованием мяса птицы для детского питания
10.86.10.700	Изделия хлебобулочные для детского питания
10.86.10.800	Кондитерские изделия для детского питания
10.86.10.810	Печенье для детского питания
10.86.10.890	Кондитерские изделия для детского питания прочие
10.91	Корма готовые для сельскохозяйственных животных
11.01.10	Напитки алкогольные дистиллированные и ректификованные
11.02.1	Вина виноградные, в том числе из свежего винограда; сусло виноградное
11.05	Пиво
11.06	Солод

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(обязательное)

Алгоритм оценки показателей точности для других матриц

Б.1 План-эксперимент должен быть построен с учетом раздела 5 РМГ 61-2010 «Метод оценки показателей качества методики анализа с помощью набора образцов для оценивания».

Б.2 Образцами для оценивания (ОО) служат образцы, аттестованные по процедуре приготовления на массовую долю анализируемого микотоксина по Приложению В настоящей методики.

Б.3 Рекомендуется готовить ОО таким образом, чтобы содержание в них каждого анализируемого микотоксина охватило весь желаемый диапазон.

Б.4 Для каждого ОО выполняют по 5 серий измерений в 2 параллелях массовой доли микотоксина в условиях воспроизводимости (т.е. разными операторами, в разные дни, с использованием разных тест-систем, разных наборов мерной посуды) в точном соответствии с методикой измерений. Результаты параллельных измерений X_1 и X_2 должны быть получены в условиях повторяемости (т.е. одним оператором, с применением одного набора, в близкий промежуток времени).

Таблица Б.1 – Форма представления статистических данных при оценке прецизионности и правильности

Номер ОО $m=1,...,M$	Аттестованное значение массовой доли микотоксина в ОО, мкг/кг (мг/кг)	Номер серии $i=1,...,L$	Результаты единичного анализа массовой доли микотоксина в ОО	
			X_1, мкг/кг (мг/кг)	X_2, мкг/кг (мг/кг)
1		1		
		2		
		3		
		4		
		5		

Продолжение таблицы Б.1

Номер ОО $m=1,...,M$	Аттестованное значение массовой доли микотоксина в ОО, мкг/кг (мг/кг)	Номер серии $i=1,...,L$	Результаты единичного анализа массовой доли микотоксина в ОО	
			X_1, мкг/кг (мг/кг))	X_2, мкг/кг (мг/кг)
…		…	…	…
M		1		
		2		
		3		
		4		
		5		

Б.5 Оценка показателя повторяемости

Рассчитывают среднее арифметическое $X_{m,l}$ и выборочную дисперсию $S^2_{m,l}$ результатов единичного анализа массовой доли микотоксина в *m-ом* ОО, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений)

$$X_{m,l} = \frac{\sum_{i=1}^{N} X_{m,l,i}}{N}, \quad (Б.1)$$

$$S^2_{m,l} = \frac{\sum_{i=1}^{N} (X_{m,l,i} - X_{m,l})^2}{N-1}, \quad (Б.2)$$

$$m=1,\ \ldots,\ M;\ l=1,\ \ldots,\ L. \quad (Б.3)$$

На основе полученных значений выборочных дисперсий $S^2_{m,1}$, …, $S^2_{m,L}$ в *m*-ом ОО проверяют гипотезу о равенстве генеральных дисперсий, используя критерий Кохрена. Значение критерия Кохрена $G_{m(max)}$ рассчитывают по формуле

$$G_{m(max)} = \frac{(S^2_{m,l})_{max}}{\sum_{l=1}^{L} S^2_{m,l}} \quad (Б.4)$$

и сравнивают его с табличным значением этого критерия $G_{табл}$, равным 0,841.

Если $G_{m(max)} > G_{табл}$, то соответствующее $(S^2_{m,1})_{\max}$ из дальнейших расчетов исключают.

Неисключенные из расчетов $S^2_{m,1}$ считают однородными и по ним оценивают средние квадратические отклонения (далее – СКО), характеризующие повторяемость результатов единичного анализа (параллельных определений), полученных для содержания, соответствующего массовой доли микотоксина в *m-ой* пробе. Эти СКО – $S_{r,m}$ рассчитывают по формуле

$$S_{r,m} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{L'} S^2_{m,l}}{L'}}, \qquad (Б.5)$$

где в числе слагаемых нет отброшенных значений и L' – число неотброшенных дисперсий.

Показатель повторяемости в виде СКО – $\sigma_{r,m}$ для содержания, соответствующего массовой доли микотоксина в *m*-ом ОО, устанавливают, принимая равным $S_{r,m}$

$$\sigma_{r,m} \approx S_{r,m}. \qquad (Б.6)$$

Б.6 Оценка показателя воспроизводимости

Проводят проверку средних значений, полученных в условиях повторяемости, $X_{m,l}$, на наличие выбросов по критерию Граббса.

Для результатов анализа каждого ОО $\{X_{m,l}, l = 1, \ldots, L\}$ находят максимальное $X_{m,\max}$ и минимальное $X_{m,\min}$ значения.

Рассчитывают X_m – общее среднее значение результатов анализа, полученных в условиях воспроизводимости и их средние квадратические отклонения S_m по формулам

$$X_m = \frac{\sum_{l=1}^{L} X_{m,l}}{L}, \qquad (Б.7)$$

$$S_m = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{L} (X_{m,l} - X_m)^2}{L-1}}. \qquad (Б.8)$$

Рассчитывают статистики Граббса:

$GR_{m,\max} = \dfrac{X_{m,\max} - X_m}{S_m}$ и $GR_{m,\min} = \dfrac{X_m - X_{m,\min}}{S_m}$ и сравнивают их с критическим значением $GR_{табл}$, равным 1,715 (для числа серии измерений $L = 5$).

Если $GR_{m,\max} > GR_{табл}$ или/и $GR_{m,\min} > GR_{табл}$, то соответствующие результаты $X_{m,\max}$ или/и $X_{m,\min}$ из дальнейших расчетов исключают.

Рассчитывают СКО результатов анализа *m-го* ОО, полученных в условиях воспроизводимости, $S_{R,m}$ по формуле

$$S_{R,m} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{L'}(X_{m,l} - X'_m)^2}{L'-1} + (\frac{1}{2} - \frac{1}{N'})S_{r,m}^2}, \qquad (Б.9)$$

где среди результатов нет отброшенных;

L' – число неотброшенных результатов;

X'_m – среднее арифметическое неотброшенных результатов;

N' – число неотброшенных результатов измерений, выполненных для *m-й* пробы.

Показатель воспроизводимости методики анализа в виде СКО – $\sigma_{R,m}$ для содержания, соответствующего массовой доле микотоксина в *m-ом* ОО, устанавливают, принимая равным $S_{R,m}$

$$\sigma_{R,m} \approx S_{R,m}. \qquad (Б.10)$$

Б.7 Оценка показателя правильности

Рассчитывают значение смещения – θ_m как разность между средним значением результатов анализа X_m и аттестованным значением *m*-го ОО - A_m

$$\theta_m = X_m - A_m,\ m = 1, ..., M. \qquad (Б.11)$$

Проверяют значимость вычисленных значений θ_m по критерию Стьюдента. Для этого рассчитывают значение *t*-критерия для *m* -го ОО - t_m

$$t_m = \frac{|\theta_m|}{\sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{A,m}^2}{3}}}, \qquad (Б.12)$$

где $S_m^2 = \frac{\sum_{l=1}^{L}(X_{m,l} - X_m)^2}{L-1}$ – дисперсия, характеризующая разброс средних арифметических результатов единичного анализа $X_{m,l}$ относительно среднего значения результатов анализа X_m;

$\Delta_{A,m}$ – погрешность аттестованного значения *m*-го ОО.

Полученное значение t_m сравнивают с $t_{табл}$ при числе степеней свободы *f=L-1* для доверительной вероятности *P*=0,95. Для *f* = 4 $t_{табл}$=2,78.

Если $t_m \le t_{табл}$, то оценка смещения незначима на фоне случайного разброса, и в этом случае ее принимают равной нулю ($\theta_m = 0$).

Если $t_m > t_{табл}$, оценка значения смещения значима на фоне случайного разброса. В этом случае методика измерений подлежит доработке.

При незначимости смещения показатель правильности методики измерений рассчитывается по формуле

$$\Delta_{c,m} = 1,96\sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{A,m}^2}{3}} = 1,96 \cdot \sigma_{c,m}. \qquad (Б.13)$$

Б.8 Оценка показателя точности

Показатель точности методики измерений (для содержания, соответствующего массовой доле определяемого микотоксина в *m-м* ОО) при получении экспериментальных данных в условиях воспроизводимости для принятой вероятности *P*=0,95 рассчитывают по формуле

$$\Delta_m = 1,96\sqrt{\sigma_{R,m}^2 + \sigma_{c,m}^2}. \qquad (Б.14)$$

ПРИЛОЖЕНИЕ В

(обязательное)

Процедура приготовления и расчет метрологических характеристик образцов для оценивания

В.1 Для проведения контроля качества результатов измерений при реализации методики измерений используют образцы для оценивания (далее – ОО), аттестованные по процедуре приготовления на массовую долю анализируемого микотоксина.

В.2 ОО с аттестованным значением массовой доли анализируемого микотоксина готовят из стандартных образцов утвержденных типов (далее – СО) или чистого вещества состава микотоксинов с массовой долей основного вещества не менее 95,00 % и рабочих проб, представляющих собой чистый исследуемый материал, который изначально не содержал микотоксины.

В.3 Пример приготовления стандартных и рабочих растворов состава микотоксинов (афлатоксина B_1, дезоксиниваленола, зеараленона, охратоксина А, патулина, Т-2 токсина, фумонизина и цитринина)

Приготовление стандартных растворов микотоксинов (афлатоксина B_1, дезоксиниваленола, зеараленона, охратоксина А, патулина, Т-2 токсина, фумонизина и цитринина) выполняют путем разбавления точно известной аликвоты стандартного образца или чистого вещества состава анализируемого микотоксина в растворителе. Примеры стандартных образцов и чистых веществ состава микотоксина:

- ГСО 7936-2001 состава раствора афлатоксина B_1 в смеси бензола и ацетонитрила (B_1-10);
- ГСО 7940-2001 состава раствора дезоксиниваленола в ацетонитриле (Д-100);
- ГСО 7944-2001 состава раствора зеараленона в бензоле (З-100);
- ГСО 7941-2001 состава раствора охратоксина А в смеси бензола и уксусной кислоты (О-50);
- ГСО 7938-2001 состава раствора патулина в смеси бензола и ацетонитрила (П-100);
- ГСО 7942-2001 состава раствора Т-2 токсина в бензоле;
- чистое вещество (CAS 1217458-62-2) состава раствора фумонизина B_1 в ацетонитриле с аттестованным значением 50,0 мкг/см^3 и с границами относительной погрешности аттестованных значений ± 10 % при P = 0,95.

- чистое вещество (CAS 518-75-2) состава раствора цитринина в метаноле с массовой долей основного вещества 100,2 % и с границами относительной неопределенности ± 0,6 % при P = 0,95.

Массовую концентрацию микотоксинов в растворе, вводимом в пробу в качестве добавки ($C_{р-ра(СО)}$, мкг/см^3 (мг/см^3)) рассчитывают по формуле

$$C_{р-ра(СО)} = \frac{C_{СО} \cdot V_{СО}}{V_{мк}}, \qquad (В.1)$$

где $C_{СО}$ – аттестованное значение массовой концентрации микотоксинов в СО (исходном растворе ГСО), мкг/см^3 (мг/см^3);

$V_{СО}$ – объем аликвоты СО, см^3;

$V_{мк}$ – объем мерной колбы, см^3.

Границы погрешности приготовления стандартных растворов микотоксинов (афлатоксина B_1, дезоксиниваленола, зеараленона, охратоксина А, патулина, Т-2 токсина, фумонизина и цитринина) с массовыми концентрациями микотоксинов в стандартном растворе, вводимом в пробу в качестве добавки, (номера растворов с 1 по 17) по таблице В.1, при доверительной вероятности P=0,95 (без учета знака), $\Delta C_{р-ра(СО)}$, мкг/см^3 (мг/см^3) рассчитывают по формуле

$$\Delta C_{р-ра(СО)} = C_{р-ра(СО)} \sqrt{\left(\frac{\Delta_{СО}}{C_{СО}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{алик.}}{V_{алик.\,СО}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{мк}}{V_{мк}}\right)^2}, \qquad (В.2)$$

где $\Delta V_{мк}$ – характеристика погрешности мерной колбы, см^3;

$\Delta V_{алик.}$ – характеристика погрешности одноканального дозатора (объем дозирования от 100 до 1000 мм^3), см^3;

$C_{р-ра(СО)}$ – массовая концентрация конечного стандартного раствора СО, мкг/см^3 (мг/см^3);

$\Delta_{СО}$ – характеристика погрешности аттестованного значения СО при доверительной вероятности P=0,95, применяемого соответственно для приготовления стандартных растворов микотоксинов №1 - №17, мкг/см^3.

Пример расчета массовой концентрации микотоксина (афлатоксина B_1, дезоксиниваленола, зеараленона, охратоксина А, патулина, Т-2 токсина, фумонизина и цитринина) в стандартном растворе, вводимом в пробу в качестве добавки, приведен в таблице В.1.

Растворы хранят не более 10 дней.

Таблица В.1 – Приготовление стандартных и рабочих растворов состава микотоксинов (афлатоксина B_1, дезоксиниваленола, зеараленона, охратоксина А, патулина, Т-2 токсина, фумонизина и цитринина)

Микотоксин	Наименование конечного и исходного растворов	Массовая концентрация микотоксина в СО[1] (исходном растворе), C_{CO}, мкг/см^3	Объем аликвоты СО (исходного раствора) $\Delta V_{алик.}$, см^3	Объем мерной колбы $V_{мк}$, см^3	Массовая концентрация микотоксина в растворе, вводимом в пробу в качестве добавки, $C_{р-ра(СО)}$, мкг/см^3 (мг/см^3)	Относительная погрешность приготовления раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $\delta C_{р-ра(СО)}$, %
AB_1	Раствор №1, готовят из ГСО 7936-2001	9,80	0,50	5,00	0,98	10,20
	Раствор №2, готовят из ГСО 7936-2001	9,80	0,50	10,00	0,49	10,16
	Раствор №3, готовят из раствора №1	0,98	0,50	5,00	0,098	10,39
ДОН	ГСО 7940-2001	98,00	-	-	98,00	10,00
	Раствор №4 готовят из ГСО 7940-2001	98,00	0,50	10,00	0,0049	10,16
Зеараленон	Раствор №5, готовят из ГСО 7944-2001	99,70	0,50	5,00	9,97	10,20
	Раствор №6, готовят из раствора №5	9,70	0,50	5,00	0,097	10,39
ОТА	Раствор №7, готовят из ГСО 7941-2001	49,00	0,50	10,00	2,45	10,16
	Раствор №8, готовят из раствора №7	2,45	0,50	10,00	0,123	10,31
Патулин	Раствор №9, готовят из ГСО 7938-2001	98,00	1,00	10,00	9,80	10,05
	Раствор №10, готовят из раствора №9	9,80	1,00	10,00	0,98	10,10
	Раствор №11, готовят из раствора №10	0,98	1,00	10,00	0,098	10,14

Продолжение таблицы В.1

Микотоксин	Наименование конечного и исходного растворов	Массовая концентрация микотоксина в СО[1] (исходном растворе), $C_{СО}$, мкг/см^3	Объем аликвоты СО (исходного раствора) $\Delta V_{аликвота}$, см^3	Объем мерной колбы $V_{мк}$, см^3	Массовая концентрация микотоксина в растворе, вводимом в пробу в качестве добавки, $C_{р-ра(СО)}$, мкг/см^3 (мг/см^3)	Относительная погрешность приготовления раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $\delta C_{р-ра(СО)}$, %
Т-2 токсин	Раствор №12 готовят из ГСО 7942-2001	97,00	0,50	5,00	9,70	10,20
	Раствор №13, готовят из раствора №12	9,70	1,0	5,00	1,94	10,28
Фумонизин B_1	Раствор №14, готовят из RM	50,10	0,50	5,00	0,005	10,20
	Раствор №15, готовят из раствора №14	0,005	2,50	5,00	0,0025	10,28
Цитринин	Раствор №16, готовят из RM	100,10	0,50	10,00	5,01	10,16
	Раствор №17, готовят из раствора №16	5,01	1,00	10,00	0,50	10,72

[1]Значение, установленное в паспорте на ГСО (сертификате анализа в чистом веществе).
[2] Фактическое значение массовой концентрации микотоксинов в растворе, вводимом в пробу в качестве добавки ($C_{р-ра(СО)}$, мкг/см^3) рассчитываемое по формуле В.1.

В.4 Приготовление проб, загрязненных микотоксинами

В приготовленные по 10.5 пробы вводят добавку в соответствии с таблицей В.7

В качестве ОО применяют однородные по составу, стабильные рабочие пробы, заведомо не содержащие микотоксины. Были выбраны типичные представители среди пищевых продуктов: рожь, пшеница, крупа ячневая, чечевица, нут, рапс, макароны пшеничные, сухари пшеничные, фисташки, масло льняное, сушеное мясо, цельное молоко, кофе, яблоки, паста томатная, пюре яблочно-морковное, печенье детское растворимое, консервы детские; среди кормов для животных и комбикормового сырья: силос, шрот, шрот соевый; среди отходов виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности: мезга, солод, пиво.

При этом массовую долю микотоксина в пробе с добавкой $W_Д$, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$W_Д = \frac{C_{исх.р-ра} \cdot V_{доб}}{m_{нав} + V_{доб} \cdot \rho_{р-ля}} \cdot 1000, \qquad (В.13)$$

где $C_{исх.р-ра}$ – массовая концентрация микотоксина в растворе, вводимом в пробу в качестве добавки, мкг/см^3;

$m_{нав}$ – масса навески пробы, подготовленной по 11.5.1, г;

$V_{доб}$ – объем аликвоты раствора микотоксина, вводимого в пробу в качестве добавки, см^3;

$\rho_{р-ля}$ – плотность реактивов, входящих в состав растворителя (метанол), принята равной 1 г/см^3.

1000 – коэффициент для перевода г в кг.

Границы погрешности величины добавки при доверительной вероятности *P*=0,95 (без учета знака), $\Delta_Д$, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$\Delta_Д = W_Д \sqrt{\left(\frac{\Delta C_{исх.р-ра}}{C_{исх.р-ра}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{доб}}{V_{доб}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta m_{нав}}{m_{нав}}\right)^2}, \qquad (В.14)$$

где $W_Д$ – массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, мкг/кг;

$\Delta C_{исх.р-ра}$ – характеристика погрешности приготовления растворов микотоксинов, вводимых в пробу в качестве добавки, мкг/см^3;

$\Delta V_{доб}$ – характеристики погрешности мерной посуды, применяемой для взятия аликвот растворов микотоксинов, вводимых в пробу в качестве добавки, см^3;

$\Delta m_{нав}$ – характеристика погрешности весов, применяемых для взвешивания пробы, г.

Пример расчетов массовой доли микотоксина в пробе с добавкой представлен в таблице В.2 – В.9.

Таблица В.2 – Массовая доля Афлатоксина B_1 в пробе с добавкой, мкг/кг (ppb)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мкг/кг (ppb)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Рожь	№2	0,02	**1,96**	10,48
	№2	0,05	**4,87**	10,47
	№1	0,15	**29,40**	10,46
Чечевица	№2	0,02	**1,96**	10,48
	№2	0,05	**4,87**	10,47
	№1	0,15	**29,40**	10,46
Рапс	№2	0,02	**1,96**	10,48
	№2	0,05	**4,87**	10,47
	№1	0,15	**29,40**	10,46
Макароны пшеничные	№2	0,02	**1,96**	10,48
	№2	0,05	**4,87**	10,47
	№1	0,15	**29,40**	10,46
Силос	№2	0,02	**1,96**	10,48
	№2	0,05	**4,87**	10,47
	№1	0,15	**29,40**	10,46
Шрот	№2	0,02	**1,96**	10,48
	№2	0,05	**4,87**	10,47
	№1	0,15	**29,40**	10,46
Фисташки	№3	0,05	**1,96**	10,69
	№2	0,02	**4,90**	10,33
	№2	0,15	**29,40**	10,16
Масло льняное	№3	0,02	**1,96**	10,68
	№3	0,05	**4,90**	10,59
	№2	0,06	**27,74**	10,46
Сушеное мясо	№2	0,02	**1,96**	10,48
	№2	0,05	**4,87**	10,47
	№1	0,15	**29,40**	10,46

Таблица В.3 – Массовая доля дезоксиниваленола в пробе с добавкой, мг/кг (ppm)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мг/кг (ppm)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Пшеница	№4	0,08	**0,16**	10,30
	№4	0,50	**0,39**	10,44
	ГСО	0,08	**1,57**	10,30
Нут	№4	0,08	**0,16**	10,30
	№4	0,50	**0,39**	10,44
	ГСО	0,08	**1,57**	10,30
Рапс	№4	0,08	**0,16**	10,30
	№4	0,50	**0,39**	10,44
	ГСО	0,08	**1,57**	10,30
Сухари пшеничные	№4	0,08	**0,16**	10,30
	№4	0,50	**0,39**	10,44
	ГСО	0,08	**1,57**	10,30
Силос	№4	0,08	**0,16**	10,30
	№4	0,50	**0,39**	10,44
	ГСО	0,08	**1,57**	10,30
Шрот	№4	0,08	**0,16**	10,30
	№4	0,50	**0,39**	10,44
	ГСО	0,08	**1,57**	10,30
Пиво	№4	0,08	**0,16**	10,30
	№4	0,50	**0,39**	10,44
	ГСО	0,08	**1,57**	10,30

Таблица В.4 – Массовая доля зеараленона в пробе с добавкой, мкг/кг (ppb)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мкг/кг (ppb)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Рожь	№5	0,02	**29,94**	10,51
	№5	0,05	**99,70**	10,50
	№5	0,10	**199,40**	10,48
Чечевица	№5	0,02	**29,94**	10,51
	№5	0,05	**99,70**	10,50
	№5	0,10	**199,40**	10,48
Рапс	№5	0,02	**29,94**	10,51
	№5	0,05	**99,70**	10,50
	№5	0,10	**199,40**	10,48
Макароны пшеничные	№5	0,02	**29,94**	10,51
	№5	0,05	**99,70**	10,50
	№5	0,10	**199,40**	10,48
Силос	№5	0,02	**29,94**	10,51
	№5	0,05	**99,70**	10,50
	№5	0,10	**199,40**	10,48
Шрот	№5	0,02	**29,94**	10,51
	№5	0,05	**99,70**	10,50
	№5	0,10	**199,40**	10,48
Пиво	№6	0,03	**29,91**	10,51
	№6	0,10	**99,70**	10,48
	№5	0,02	**199,40**	10,51
Молоко цельное	№6	0,03	**29,91**	10,51
	№6	0,10	**99,70**	10,48
	№5	0,02	**199,40**	10,51
Сушеное мясо	№5	0,02	**29,94**	10,51
	№5	0,05	**99,70**	10,50
	№5	0,10	**199,40**	10,48

Таблица В.5 – Массовая доля охратоксина А в пробе с добавкой, мкг/кг (ppb)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мкг/кг (ppb)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Рис	№8	0,07	**1,60**	10,61
	№7	0,02	**9,80**	10,42
	№7	0,10	**49,00**	10,44
Чечевица	№8	0,07	**1,60**	10,44
	№7	0,02	**9,80**	10,40
	№7	0,10	**49,00**	10,61
Рапс	№8	0,07	**1,60**	10,44
	№7	0,02	**9,80**	10,32
	№7	0,10	**49,00**	10,61
Макароны пшеничные	№8	0,07	**1,60**	10,44
	№7	0,02	**9,80**	10,46
	№7	0,10	**49,00**	10,61
Силос	№8	0,07	**1,60**	10,44
	№7	0,02	**9,80**	10,16
	№7	0,10	**49,00**	10,61
Шрот	№8	0,07	**1,60**	10,44
	№7	0,02	**9,80**	10,16
	№7	0,10	**49,00**	10,61
Пиво	№8	0,04	**1,61**	10,51
	№7	0,02	**12,31**	10,48
	№7	0,05	**41,11**	10,51
Кофе	№8	0,07	**1,60**	10,44
	№7	0,02	**9,80**	10,16
	№7	0,10	**49,00**	10,61

Таблица В.6 – Массовая доля патулина в пробе с добавкой, мкг/кг (ppb)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мкг/кг (ppb)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Силос	№11	0,10	**1,96**	10,67
	№10	0,08	**14,7**	10,49
	№9	0,03	**49,0**	10,47
Солод	№11	0,10	**1,96**	10,47
	№10	0,08	**14,7**	10,49
	№9	0,03	**49,0**	10,67
Мезга зерновая	№11	0,10	**1,96**	10,47
	№10	0,08	**14,7**	10,49
	№9	0,03	**49,0**	10,67
Яблоки	№11	0,10	**1,96**	10,47
	№10	0,08	**14,7**	10,49
	№9	0,03	**49,0**	10,67
Томатная паста	№11	0,10	**1,96**	10,47
	№10	0,08	**14,7**	10,49
	№9	0,03	**49,0**	10,67
Пюре яблочно-морковное	№11	0,10	**1,96**	10,47
	№10	0,08	**14,7**	10,49
	№9	0,03	**49,0**	10,67

Таблица В.7 – Массовая доля Т-2 токсина в пробе с добавкой, мкг/кг (ppb)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мкг/кг (ppb)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Пшеница	№13	0,10	**38,8**	10,60
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,42
Нут	№13	0,10	**38,8**	10,42
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,60
Рапс	№13	0,10	**38,8**	10,42
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,60
Крупа ячневая	№13	0,10	**38,8**	10,42
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,60
Силос	№13	0,10	**38,8**	10,42
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,60
Комбикорм	№13	0,10	**38,8**	10,42
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,60
Растворимое детское печенье	№13	0,10	**38,8**	10,42
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,60
Консервы детские	№13	0,10	**38,8**	10,42
	№12	0,05	**97,0**	10,47
	№12	0,15	**291,0**	10,60

Таблица В.8 – Массовая доля Фумонизина в пробе с добавкой, мг/кг (ppm)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мг/кг (ppm)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Пшеница	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32
Нут	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32
Рапс	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32
Сухари пшеничные	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32
Силос	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32
Шрот соевый	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32
Пиво	№14	0,04	**0,093**	10,51
	№14	0,26	**0,55**	10,45
	RM	0,06	**2,81**	10,31
Растворимое детское печенье	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32
Мезга зерновая	№14	0,09	**0,094**	10,48
	RM	0,06	**0,56**	10,31
	RM	0,28	**2,80**	10,32

Таблица В.9 – Массовая доля Цитринина в пробе с добавкой, мкг/кг (ppb)

Наименование пробы	Номер раствора, вводимого в пробу в качестве добавки	Объем аликвоты раствора, вводимого в пробу в качестве добавки, $V_{доб}$, см^3	Массовая доля микотоксина в пробе с добавкой, $W_Д$, мкг/кг (ppb)	Границы относительной погрешности величины добавки при доверительной вероятности P = 0,95, %
Пшеница	№17	0,20	**20,00**	10,90
	№16	0,20	**200,0**	10,35
	№16	0,35	**350,0**	10,35
Нут	№17	0,20	**20,0**	10,35
	№16	0,20	**200,0**	10,35
	№16	0,35	**350,00**	10,90
Лен	№17	0,20	**20,0**	10,35
	№16	0,20	**200,0**	10,35
	№16	0,35	**350,00**	10,90
Макароны пшеничные	№17	0,20	**20,0**	10,35
	№16	0,20	**200,0**	10,35
	№16	0,35	**350,00**	10,90
Силос	№17	0,20	**20,0**	10,35
	№16	0,20	**200,0**	10,35
	№16	0,35	**350,00**	10,90
Мезга зерновая	№17	0,20	**20,0**	10,35
	№16	0,20	**200,0**	10,35
	№16	0,35	**350,00**	10,90

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

(обязательное)

Коэффициенты перекрестно-реагирующих производных соединений

Иммуноферментный метод измерений с использованием тест-систем имеет следующие характеристики специфичности, выраженные коэффициентах перекрестно-реагирующих производных соединений.

Таблица Г.1 – Коэффициенты перекрестно-реагирующих производных соединений

Наименование (обозначение) микотоксина	Наименование компонента	Коэффициент перекрестного реагирования, %
Афлатоксин B_1 (AB_1)	Афлатоксин B_1	100,0 %
	Афлатоксин B_2	18,5 %
	Афлатоксин G_1	13,2 %
	Афлатоксин G_2	1,9 %
Дезоксиниваленол (ДОН)	Дезоксиниваленол	100,0 %
	Т2 токсин	Менее 0,1 %
	НТ2 токсин	Менее 0,1 %
Зеараленон	Зеараленон	100
Охратоксин А (ОТА)	Охратоксин А	100,0 %
Патулин	Патулин	100,0 %
	Оксолиновая кислота	40,0 %
	Пипемидовая кислота	18,0 %
Т2 токсин (Т2)	Т2 токсин	100,0 %
	НТ2 токсин	10,0 %
Фумонизины	Фумонизин B_1	100,0 %
	Фумонизин B_2	70,0 %
	Фумонизин B_3	100,0 %
Цитринин	Цитринин	100,0 %

УДК 636.086.1:635.65:664.641.11:633.85:636.085.55:613.287.5:664.665:664.762:664.647.3:

636.087.24: 664.921:57.083.3

Ключевые слова: зерновые корма, зернобобовые культуры, мука из зерна, масличные культуры, комбикорм, крупа, молоко коровье, детское питание, фруктовые пюре и прочие продукты из фруктов, отходы виноделия, пивоварения и спиртовой промышленности (солод, ячменный солод, дрожжи, барда, дробина и т. п.), сушеное мясо, иммуноферментный анализ