

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
34108—  
2017

---

## **КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ**

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

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2020

## Предисловие

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

### Сведения о стандарте

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

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

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 1 июня 2017 г. № 51)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

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

### 5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2020 г.

*Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.*

*В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»*

© Стандартиформ, оформление, 2017, 2020



В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

## Содержание

1 Область применения .....	1
2 Нормативные ссылки .....	1
3 Термины и определения .....	2
4 Сущность метода .....	2
5 Требования безопасности .....	2
6 Условия проведения испытаний .....	3
7 Требования к квалификации оператора .....	3
8 Отбор проб .....	3
9 Подготовка проб .....	3
10 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы .....	3
11 Подготовка к выполнению испытания .....	5
12 Проведение испытания .....	6
13 Обработка результатов .....	10
14 Оформление результатов испытаний .....	11
15 Контроль точности результатов определений .....	11
16 Протокол испытаний .....	13
Приложение А (рекомендуемое) Приготовление градуировочных растворов микотоксинов .....	14
Приложение Б (рекомендуемое) Схема расположения лунок в планшете .....	18
Приложение В (рекомендуемое) Таблица для записи результатов измерений .....	19

## КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ

## Определение содержания микотоксинов прямым твердофазным конкурентным иммуноферментным методом

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

Дата введения — 2019—01—01

## 1 Область применения

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

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

Диапазоны измерений приведены в таблице 4.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты.

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

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

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

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

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

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

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

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

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995 Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13496.0 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 13586.3 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

- ГОСТ 13979.0 Жмыхи, шроты и горчичный порошок. Правила приемки и методы отбора проб  
 ГОСТ 16317 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия  
 ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры  
 ГОСТ 21669\* Комбикорма. Термины и определения  
 ГОСТ 28311 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний  
 ГОСТ 29169 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой  
 ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования  
 ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания  
 ГОСТ ISO 6498 Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний  
 ГОСТ ИСО 5725-1\*\* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения.  
 ГОСТ ИСО 5725-6\*\*\* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

**Примечание** — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации ([www.eurasia.org](http://www.eurasia.org)) или по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Термины и определения

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

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

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

### 4 Сущность метода

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

### 5 Требования безопасности

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

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

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

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

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

5.2 Работа с химическими реактивами должна проводиться в вытяжном шкафу.

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

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

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

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

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

## 6 Условия проведения испытаний

При подготовке и проведении испытаний должны быть соблюдены следующие условия:

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

## 7 Требования к квалификации оператора

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

## 8 Отбор проб

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

## 9 Подготовка проб

Подготовка проб — по ГОСТ ISO 6498 со следующим дополнением.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

10.20 Метанол-яд по ГОСТ 6995, х. ч.



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

10.22 Пластиковые емкости для хранения растворов.

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

10.24 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

#### Примечания

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

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

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

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

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

## 11 Подготовка к выполнению испытания

### 11.1 Подготовка лабораторной посуды

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

Запрещается:

- многократное использование одноразовой лабораторной посуды;
- использование бытовых моющих средств для мойки лабораторной посуды.

### 11.2 Подготовка прибора к работе

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



## 11.4 Приготовление растворов

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

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

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

### 11.4.2 Приготовление промывочного раствора для определения содержания ДОН

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

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

### 11.4.3 Приготовление градуировочных растворов микотоксинов

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

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

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

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

## 12 Проведение испытания

### 12.1 Приготовление экстрактов микотоксинов

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

#### Примечания:

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

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

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

Таблица 1

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

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

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

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

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

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

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

## 12.2 Проведение градуировки и анализа экстрактов проб

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

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

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

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

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

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

Таблица 2

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

Окончание таблицы 2

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

\* Допускается использование дифференциального фильтра на 630 нм.

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

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

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

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

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

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

### 12.3 Построение и оценка градуировочной характеристики

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

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

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

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

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

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

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

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

100 — коэффициент перевода в проценты.

Для каждого градуировочного раствора определяют

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

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

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки.

Полученные значения являются координатами точек градуировочной характеристики по оси Y.

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

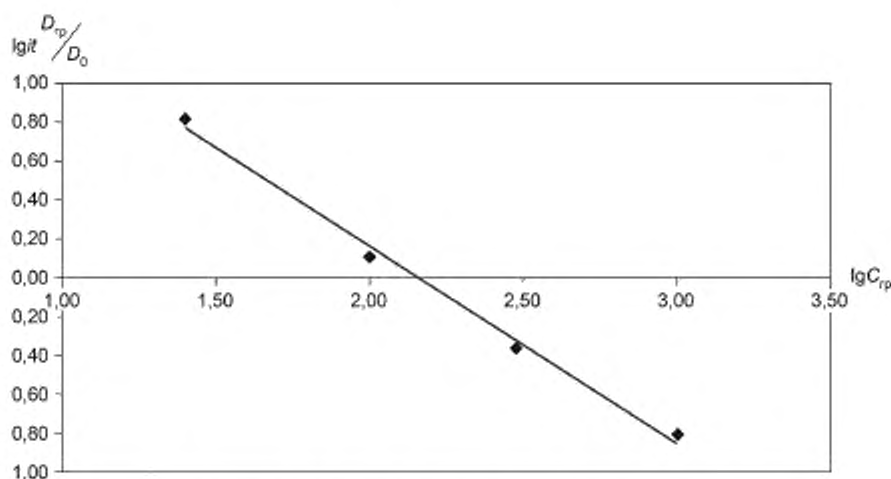


Рисунок 1 — Пример градуировочной характеристики

Полученная градуировочная характеристика описывается уравнением

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

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

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина  $i$ -го раствора, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);

$a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.

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

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

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

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина  $i$ -го раствора, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);

$a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.

Градуировочную характеристику признают стабильной, если выполняется условие

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

где  $C_{i, \text{изм}}$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина в  $i$ -м градуировочном растворе, вычисленная по формуле (4), мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);

$C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина в  $i$ -м градуировочном растворе, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);

$g_1$  — норматив контроля при доверительной вероятности  $P = 0,95$  (см. таблицу 3).

Таблица 3

В процентах

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

### 13 Обработка результатов

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

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

где  $D_{\text{пр}}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.

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

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

где  $D_{\text{пр}}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$a, b$  — коэффициенты линейного уравнения.

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

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

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

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

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

## 14 Оформление результатов испытаний

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

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

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

где 0,01 — коэффициент пересчета;

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

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

Допускается представление результатов в микрограммах в килограмме.

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

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

Таблица 4

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

## 15 Контроль точности результатов определений

### 15.1 Контроль повторяемости результатов определений

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

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

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



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

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

$r_{0.95}$  — предел повторяемости при доверительной вероятности  $P = 0,95$  (см. таблицу 4).

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

### 15.2 Контроль промежуточной прецизионности

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

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

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

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

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

### 15.3 Контроль правильности определения

Периодичность контроля показателя правильности измерений определяется планом внутрилабораторного контроля.

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

Результат считают удовлетворительным, если выполняется условие

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

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

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

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

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

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

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

### 15.4 Контроль полноты экстракции

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

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

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

Результат контроля признается удовлетворительным, если выполняется условие

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

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

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

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

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



## 16 Протокол испытаний

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

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

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

**Приготовление градуировочных растворов микотоксинов**

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

Таблица А.1

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

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

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

где  $C_0$  — действительное значение массовой концентрации микотоксина в растворе, взятом для разбавления, мг/дм<sup>3</sup>;

$V_0$  — объем раствора микотоксина, взятый для разбавления, см<sup>3</sup>;

$V_i$  — объем приготовленного градуировочного раствора, см<sup>3</sup>.

#### A.2 Приготовление основного и градуировочных растворов афлатоксина В.

#### A.2.1 Приготовление основного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 0,05 мг/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 0,5 см<sup>3</sup> стандартного образца афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 10 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и еще раз перемешивают.

#### A.2.2 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В. № 4

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 5,0 см<sup>3</sup> основного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> (см. А.2.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,005 мг/дм<sup>3</sup>.

### A.2.3 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В, № 3

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 4,0 см<sup>3</sup> основного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> (см. А.2.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,002 мг/дм<sup>3</sup>

#### А.2.4 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В, № 2

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 5,0 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.2.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0005 мг/дм<sup>3</sup>

#### A.2.5 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В, № 1

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 2,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.2.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0002 мг/дм<sup>3</sup>

### А.3 Приготовление основного и градуировочных растворов ДОН

**А.3.1 Приготовление основного раствора ДОН массовой концентрации 2,0 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> наливают около 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, вносят 2,5 см<sup>3</sup> стандартного образца ДОН массовой концентрацией 20 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

#### A.3.2 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 4

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, вносят 6,3 см<sup>3</sup> основного раствора ДОН (см. А.3.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН —  $0.25 \text{ мг/дм}^3$

### А.3.3 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 3

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, вносят 5,0 см<sup>3</sup> основного раствора ДОН (см. А.3.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,1 мг/дм<sup>3</sup>.

#### A.3.4 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 2

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, вносят 10,0 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 4 (см. А.3.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,05 мг/дм<sup>3</sup>

#### А.3.5 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 1

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> помещают около 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, вносят 2,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 4 (см. А.3.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН —  $0,0125 \text{ мг/дм}^3$ .

#### А.4 Приготовление основного и градуировочных растворов зеараленона

#### A.4.1 Приготовление основного раствора зеараленона массовой концентрации 0.40 мг/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 2,0 см<sup>3</sup> стандартного образца зераленоноа массовой концентрации 20 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

#### A.4.2 Приготовление градуировочного раствора зеаралена № 4

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> раствора А (см. 11.4.1), вносят 10,0 см<sup>3</sup> основного раствора зearалена (см. А.4.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки раствором А и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеаралена — 0,04 мг/дм<sup>3</sup>.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Основной раствор фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 10 мг/дм<sup>3</sup> готовят в два этапа.

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

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

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

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

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

10 — коэффициент согласования единиц измерения;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Схема расположения лунок в планшете**

Таблица Б.1

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

1—12 — номера стрипов в планшете;

A—G — обозначения лунок в стрипах;

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

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

П 1—П 25 — лунки для экстрактов проб.

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

**Таблица для записи результатов измерений**

Таблица В.1

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



УДК 636.085.3:006.354

МКС 65.120

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

---

Редактор переиздания *Ю.А. Расторгуева*  
Технический редактор *И.Е. Черепкова*  
Корректор *М.И. Першина*  
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 17.06.2020. Подписано в печать 28.08.2020. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,50.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11  
[www.jurisizdat.ru](http://www.jurisizdat.ru) [y-book@mail.ru](mailto:y-book@mail.ru)

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)

Изменение № 1 ГОСТ 34108—2017 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания микотоксинов прямым твердофазным конкурентным иммуноферментным методом

Принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 141-п от 30.06.2021)

Зарегистрировано Бюро по стандартам МГС № 15641

За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: AM, BY, KG, KZ, RU, TJ, UZ [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166) 004]

Дату введения в действие настоящего изменения устанавливают указанные национальные органы по стандартизации\*

Содержание. Наименование приложения А дополнить словами: «для тест-системы № 1 и тест-системы № 2».

Раздел 2. ГОСТ 6709 дополнить знаком сноски — \*;  
дополнить сноской \*:

«  
\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144—2018»;

ГОСТ 6995. Наименование перед словами «Метанол-яд» дополнить словом: «Реактивы.»;

ГОСТ 29169. Дополнить обозначением: «(ИСО 648—77)»;

заменить ссылки: «ГОСТ ИСО 5725-1\*\*» на «ГОСТ ИСО 5725-1—2003\*\*»; «ГОСТ ИСО 5725-6\*\*\*» на «ГОСТ ИСО 5725-6—2003\*\*\*».

Раздел 4 изложить в новой редакции:

«Сущность метода заключается в извлечении микотоксинов из проб экстрагентом, проведении в ячейках планшета реакции, в результате которой образуются окрашенные комплексы, добавлении останавливающего реактива, измерении значений оптической плотности и вычисления результатов.

Для определения микотоксинов используют один из двух вариантов тест-систем.

Метод с использованием тест-системы № 1 с двумя планшетами предусматривает смешивание конъюгата и экстрактов проб или градуировочных растворов в первом планшете и проведение реакции во втором планшете с нанесенными (иммобилизованными) на поверхность ячеек планшета специфическими антителами (далее — АТ), после инкубации и отмывки носителя от несвязавшихся компонентов вносят субстрат, в результате реакции с которым образуются окрашенные комплексы.

Метод с использованием тест-системы № 2 с одним планшетом предусматривает дозирование экстрактов проб или градуировочных растворов, конъюгата и специфических АТ в лунки планшета с иммобилизованными неспецифическими АТ. После инкубации и отмывки носителя от несвязавшихся компонентов вносят субстрат, в результате реакции с которым образуются окрашенные комплексы».

Раздел 10. Пункт 10.3. Первый абзац. Исключить слова: «, в состав которой входят.»;

дополнить словами (после первого абзаца): «Тест-система № 1 включает.»;

примечание. Заменить слова: «с приложением А» на «с А.2—А.7 (см. приложение А)»;

дополнить абзацем и примечанием (после примечания):

«Тест-система № 2 включает:

- планшет разборный с микролунками с иммобилизованными неспецифическими АТ;
- флакон с раствором конъюгата;
- флакон с раствором специфических АТ;
- флакон с останавливающим раствором;
- флакон с раствором субстрата;
- флакон с разбавителем проб;
- флакон с промывочным раствором;
- градуировочные растворы, содержащие микотоксины разной концентрации для градуировки тест-системы № 2.

\* Дата введения в действие на территории Российской Федерации — 2022—01—01.

**Примечание** — Допускается вместо градуировочных растворов, входящих в состав тест-системы, использовать градуировочные растворы микотоксинов, приготовленные в соответствии с А.9—А.14 (см. приложение А) из стандартных образцов:

- раствор афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 3 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор дезоксиниваленола массовой концентрации 200 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор зеараленона массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор ократоксина А массовой концентрации 50 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор Т-2 токсина массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор фумонизина массовой концентрации 500 мкг/см<sup>3</sup>;

дополнить примечанием (после последнего абзаца):

«Примечание — Допускается использование тест-систем различных производителей, позволяющих обеспечить необходимую точность результатов определений согласно разделу 15. Применять рекомендованные ими способы подготовки проб и постановки иммуноферментного анализа следует в соответствии с инструкцией изготовителя».

Пункт 10.9 после слов «переменного объема 30—300 мм<sup>3</sup>» дополнить словами: «или шаговая пипетка (далее — степпер) с шагом дозирования 50, 100 мм<sup>3</sup>».

Пункт 10.23 изложить в новой редакции:

«10.23 Вials вместимостью 5—10 см<sup>3</sup> или пробирки типа Эппендорф для разбавления экстрактов».

Раздел 11. Подраздел 11.3. Восьмой абзац после слов «пипеточный дозатор» дополнить словами: «или степпер».

Пункт 11.4.2. Наименование. Исключить слова: **«для определения содержания ДОН»**;

дополнить абзацем (после наименования): «Приготовление промывочного раствора для определения содержания ДОН для тест-системы № 1»;

дополнить абзацами (после последнего):

«Приготовление промывочного раствора для определения содержания микотоксинов для тест-системы № 2

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают 100 см<sup>3</sup> концентрированного промывочного раствора из комплекта реактивов к тест-системе. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре не более одной недели или при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 мес.

Пункт 11.4.3. Первый абзац изложить в новой редакции:

«Для построения градуировочной характеристики каждого микотоксина используют входящие в соответствующий набор тест-системы градуировочные растворы различной концентрации: один раствор, не содержащий микотоксин (далее — нулевая точка), и четыре градуировочных раствора различной концентрации микотоксина для тест-системы № 1 или пять градуировочных растворов для тест-системы № 2. Содержание микотоксинов в градуировочных растворах тест-системы № 1 приведено в таблице А.1, тест-системы № 2 — в таблице А.2 (см. приложение А);

третий абзац изложить в новой редакции:

«Допускается готовить градуировочные растворы из стандартных образцов микотоксинов для тест-системы № 1 в соответствии с А.2—А.7, для тест-системы № 2 — в соответствии с А.9—А.14 (см. приложение А)».

Раздел 12. Подраздел 12.1 дополнить абзацем (после наименования):

«Экстрагирование»;

первый абзац после слов «(см. таблицу 1)» дополнить словами. «При использовании тест-системы № 2 для определения ократоксина А к пробе добавляют 50 см<sup>3</sup> экстрагента»;

после слова «Закрывают» дополнить словом: «колбу»;

примечания. Примечание 1. Исключить соотношение: «1 : 5»;

дополнить примечанием 4:

«4 Допускается вместо фильтрации через бумажный фильтр проводить центрифугирование при 3000 г в течение 5 мин»;

таблицу 1 изложить в новой редакции:

«Таблица 1

Наименование микотоксина	Экстрагент	Коэффициент разбавления $f_1$ для тест-системы	
		№ 1	№ 2
Афлатоксин В <sub>1</sub>	Раствор А (см. 11.4.1)	2	2
Сумма афлатоксинов	Раствор А (см. 11.4.1)	1	2
ДОН	Дистиллированная вода	4	5
Зеараленон	Раствор А (см. 11.4.1)	5	2
Охратоксин А	Раствор А (см. 11.4.1)	1	—
	Дистиллированная вода	—	2
Т-2 токсин	Раствор А (см. 11.4.1)	1	7
Сумма фумонизинов	Раствор А (см. 11.4.1)	20	15

»;

дополнить абзацем (после таблицы 1):

«Разбавление экстрактов для тест-системы № 1»;

дополнить абзацами (после последнего):

«Далее проводят градуировку и анализ экстрактов проб по 12.2.

Разбавление экстрактов для тест-системы № 2

Фильтраты для определения содержания разбавляют в соответствии с таблицей 1 и далее используют для дальнейшего проведения испытания по 12.2.

Разбавление экстракта для определения содержания афлатоксина В<sub>1</sub>, суммы афлатоксинов, охратоксина А, зеараленона разбавителем проб проводят следующим образом: в пробирку типа Эппендорф дозатором помещают 500 мм<sup>3</sup> разбавителя проб, вносят 500 мм<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

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

Разбавление экстракта для определения содержания ДОН проводят следующим образом: в пробирку типа Эппендорф дозатором помещают 400 мм<sup>3</sup> разбавителя проб, вносят 100 мм<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

Разбавление экстракта для определения содержания суммы фумонизинов проводят следующим образом: в пробирку типа Эппендорф дозатором помещают 700 мм<sup>3</sup> разбавителя проб, вносят 50 мм<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают».

Подраздел 12.2 дополнить абзацем (после наименования):

«Проведение градуировки и анализа экстрактов проб для тест-системы № 1»;

первый абзац после слов «для смешивания реактивов» дополнить словами:

«(схема расположения лунок приведена в приложении Б)»;

третий абзац. Заменить слова: «В остальные лунки первого планшета» на «Затем»;

таблицу 2 изложить в новой редакции:

«Таблица 2

Наименование микотоксина	Разбавляющий раствор	Время инкубации с раствором конъюгата, мин	Время инкубации с раствором конъюгата и раствором специфических АТ, мин	Время инкубации с раствором субстрата, мин		Промывочный раствор		Длина волны, нм	
		тест-система № 1	тест-система № 2	тест-система № 1	тест-система № 2	тест-система № 1	тест-система № 2	тест-система № 1	тест-система № 2
Афлатоксин В <sub>1</sub>	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Сумма афлатоксинов	Раствор А (см. 11.4.1)	15	5	5	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450	620
ДОН	Дистиллированная вода	15	10	5	5	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450	620
Зеараленон	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Охратоксин А	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Т-2 токсин	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	5	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Сумма фумонизинов	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450	620

\* Допускается использование дифференциального фильтра на 630 нм.

восьмой, девятый абзацы. После слов «восьмиканальный дозатор» дополнить словами: «или степлер»;

дополнить абзацами (после последнего примечания).

«Далее проводят построение и оценку градуировочной характеристики по 12.3.

Проведение градуировки и анализа экстрактов проб для тест-системы № 2

Анализ градуировочных растворов и экстрактов проб проводят одновременно. В рамку планшета помещают необходимое количество бесцветных стрипов с неспецифичными антителами.

Отмеряют необходимое количество раствора конъюгата и специфичных АТ (примерно 70 мм<sup>3</sup> на лунку или 560 мм<sup>3</sup> на стрип) и помещают в отдельные емкости (или в специальные кюветы при использовании восьмиканального пипеточного дозатора). В лунки планшета вносят по 100 мм<sup>3</sup> каждого градуировочного раствора или экстракта пробы (по 50 мм<sup>3</sup> для охратоксина и суммы афлатоксинов), используя для каждого раствора новый наконечник, добавляют с помощью степлера 50 мм<sup>3</sup> конъюгата, 50 мм<sup>3</sup> специфичных АТ.

Примечание — Следует строго соблюдать последовательность внесения реактивов.

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

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

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

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

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

**Примечание** — Перед фотометрией нужно избавиться от воздушных пузырьков в лунке, поскольку они могут повлиять на результат анализа».

Подраздел 12.3. Четвертый абзац. Заменить слово: «Вычисляют» на «Для тест-системы № 1 вычисляют»;

рисунок 1. Наименование дополнить словами: «для тест-системы №1»;

формулы (3) и (4). Пояснения символов  $D_i$  и  $C_i$ . Заменить слова: «для  $i$ -го раствора» на «для  $i$ -го градуировочного раствора»;

таблицу 3 изложить в новой редакции:

«Таблица 3

В процентах

Наименование микотоксина	Норматив контроля		
	$g_1$		$g_2$
	тест-система № 1	тест-система № 2	
Афлатоксин В <sub>1</sub>	10	2	—
Сумма афлатоксинов	10	2	—
ДОН	12	2	—
Зеараленон	10	2	—
Охратоксин А	18	2	97
Т-2 токсин	11	2	—
Сумма фумонизинов	10	2	95

дополнить абзацами (после таблицы 3):

«Для тест-системы № 2 определяют процент связывания микотоксина для каждого градуировочного раствора относительно нулевой точки по формуле (1). Полученные значения являются координатами точек градуировочной характеристики по оси Y. Значения массовой концентрации (содержание) микотоксина  $C_i$  каждого градуировочного раствора являются координатами точек градуировочной характеристики по оси X.

По значениям  $X_i$  и  $Y_i$  методом наименьших квадратов строят градуировочную характеристику, которая описывается уравнением

$$Y = \frac{D_{rp}}{D_0} \cdot 100 = h + \frac{a - h}{1 + \left(\frac{C_i}{q}\right)^b}, \quad (5a)$$

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

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина  $i$ -го градуировочного раствора, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);

$a, b, h, q$  — коэффициенты градуировочного уравнения.

**Примечание** — Коэффициенты градуировочного уравнения (5a) вычисляют с применением метода наименьших квадратов. Для поиска решения нелинейной задачи может использоваться, например, метод обобщенного приведенного градиента или симплекс-метод. Для автоматизации расчетов коэффициентов градуировочного уравнения допускается использовать надстройку «Поиск решения» в программе Microsoft Excel.

Пример градуировочной характеристики, описываемой уравнением (5a), представлен на рисунке 2.

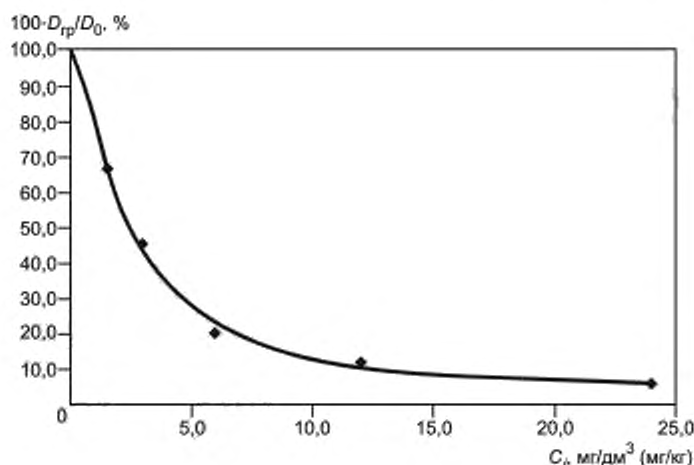


Рисунок 2 — Пример градуировочной характеристики для тест-системы № 2

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

$$C_{i, \text{изм}} = q \cdot \left( \frac{\frac{a - h}{\frac{D_i}{D_0} \cdot 100 - h}}{1} - 1 \right)^{\frac{1}{b}}, \quad (56)$$

где  $D_i$  — измеренное значение оптической плотности для раствора с массовой концентрацией (содержанием) микотоксина  $C_i$ .

Градуировочную характеристику признают стабильной, если выполняется условие (5).

Раздел 13. Пункт 13.1. Заменить слова: «13.1 Если концентрация градуировочных растворов» на «13.1 Обработка результатов для тест-системы № 1»

Если концентрация градуировочных растворов;

формула (8). Пояснение символа  $C_{пр}$ . Заменить слова: «по формуле (6)» на «по формуле (7) или (86)»;



дополнить подразделом 13.3 и пунктом 13.4:

### «13.3 Обработка результатов для тест-системы № 2

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

$$X_1 = q \cdot \left( \frac{a - h}{\frac{D_{np}}{D_0} \cdot 100 - h} - 1 \right)^{\frac{1}{b}}, \quad (8a)$$

где  $D_{np}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$a, b, h, q$  — коэффициенты градуировочного уравнения.

13.4 Вычисляют массовую концентрацию микотоксина в экстракте пробы  $C_{np}$ , мг/дм<sup>3</sup>, по формуле

$$C_{np} = q \cdot \left( \frac{a - h}{\frac{D_{np}}{D_0} \cdot 100 - h} - 1 \right)^{\frac{1}{b}}, \quad (8б)$$

где  $D_{np}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$a, b, h, q$  — коэффициенты градуировочного уравнения.

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

Содержание микотоксина в пробе  $X_2$ , мг/кг (млн<sup>-1</sup>), вычисляют по формуле (8).

Обработка результатов может проводиться автоматически с помощью программного обеспечения».

Раздел 14. Второй абзац. Заменить слова: «по формулам (7) или (8)» на «по формуле «(6) или (8), или (8а)»;

формула (9). Пояснение символа  $\bar{X}$ . Заменить слова: «по формуле «(6) или (8)» на «по формуле (6) или (8), или (8а)»;

заменить единицу измерения: «%» на «мг/кг (млн<sup>-1</sup>)»;

таблица 4. Графа «Наименование микотоксина». Заменить наименование: «Т-2» на «Т-2 токсин».

Раздел 15. Подраздел 15.1. Второй абзац. Заменить ссылку: «ГОСТ ИСО 5725-1 (подраздел 3.14)» на «ГОСТ ИСО 5725-1—2003 (подраздел 3.14)»;

формула (10). Пояснение символа  $\bar{X}$ . Заменить слова: «по формуле (6) или (8)» на «по формуле (6) или (8), или (8а)»;

последний абзац. Заменить ссылку: «ГОСТ ИСО 5725-6 (раздел 5)» на «ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (раздел 5)».

Приложение А. Наименование дополнить словами: «для тест-системы № 1 и тест-системы № 2»;

пункт А.1. Первый абзац после слов «градуировочной характеристики» дополнить словами: «для тест-системы № 1»;

заменить слова: «(см. таблицу 3)» на «(см. таблицу 2)»;

дополнить подразделами А.8—А.14:

«А.8 Для построения градуировочной характеристики для тест-системы № 2 используют разбавляющий раствор (см. таблицу 2) в качестве нулевой точки и пять градуировочных растворов, значения массовой концентрации микотоксинов в которых приведены в таблице А.2. Порядок приготовления градуировочных растворов приведен в А.9—А.14.

Таблица А.2

Наименование показателя	Номер градуировочного раствора				
	1	2	3	4	5
Номинальная массовая концентрация афлатоксина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,00015	0,0003	0,0006	0,0012	0,0024
Содержание афлатоксина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах в пересчете на содержание афлатоксина В <sub>1</sub> в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 1, мкг/кг	1,5	3,0	6,0	12,0	24,0
Номинальная массовая концентрация ДОН в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,008	0,02	0,04	0,08	0,2
Содержание ДОН в градуировочных растворах в пересчете на содержание ДОН в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 4, мкг/кг	200	500	1000	2000	5000
Номинальная массовая концентрация зеараленона в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,001	0,0025	0,0075	0,02	0,05
Содержание зеараленона в градуировочных растворах в пересчете на содержание зеараленона в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1:1, мкг/кг	10	25	75	200	500
Номинальная массовая концентрация ократоксина А в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0004	0,001	0,002	0,004	0,01
Содержание ократоксина А в градуировочных растворах в пересчете на содержание ократоксина А в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1:1, мкг/кг	2	5	10	20	50
Номинальная массовая концентрация Т-2 токсина в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0005	0,0025	0,01	0,025	0,05
Содержание Т-2 токсина в градуировочных растворах в пересчете на содержание Т-2 токсина в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1:6, мкг/кг	17,5	87,5	350	875	1750
Номинальная массовая концентрация фумонизина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,00067	0,002	0,0067	0,02	0,0667
Содержание фумонизина в градуировочных растворах в пересчете на содержание фумонизина В <sub>1</sub> в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 14, мкг/кг	0,05	0,15	0,5	1,5	5

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

$$C_{гр} = \frac{C_0 \cdot V_0}{V_i}, \quad (A.3)$$

где  $C_0$  — действительное значение массовой концентрации микотоксина в растворе, взятом для разбавления, мг/дм<sup>3</sup>;

$V_0$  — объем раствора микотоксина, взятый для разбавления, см<sup>3</sup>;

$V_i$  — объем приготовленного градуировочного раствора, см<sup>3</sup>.

#### **А.9 Приготовление градуировочных растворов афлатоксина В<sub>1</sub>**

##### **А.9.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 35 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

##### **А.9.2 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.9.1), вносят 80 мм<sup>3</sup> раствора афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 3 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0024 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.3 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 5 (см. А.9.2), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0012 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.4 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.9.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0006 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.5 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 3 (см. А.9.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0003 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.6 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 2 (см. А.9.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,00015 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10 Приготовление градуировочных растворов ДОН**

**А.10.1 Приготовление основного раствора ДОН массовой концентрации 2 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов из набора реактивов для тест-системы № 2, вносят 1 см<sup>3</sup> раствора ДОН массовой концентрации 200 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

**А.10.2 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 5**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> наливают около 10 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов, вносят 2,5 см<sup>3</sup> основного раствора ДОН (см. А.10.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,2 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.3 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 5 (см. А.10.2), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,08 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.4 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 4 (см. А.10.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,04 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.5 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 3 (см. А.10.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,02 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.6 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 2 (см. А.10.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

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

**А.11 Приготовление основного и градуировочных растворов зеараленена**

**А.11.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 35 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

**А.11.2 Приготовление основного раствора зеараленена массовой концентрации 1 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.11.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора зеараленена массовой концентрации 100 мг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

**A.11.3 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. A.11.1) вносят 5 см<sup>3</sup> основного раствора зеараленона (см. A.11.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,05 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.11.4 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 5 (см. A.11.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.11.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,02 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.11.5 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 3**

В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 3,75 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 4 (см. A.11.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.11.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,0075 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.11.6 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 2**

В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 3,33 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 3 (см. A.11.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.11.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,0025 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.11.7 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 2 (см. A.11.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.11.1) и перемешивают.

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

**A.12 Приготовление основного и градуировочных растворов охратоксина А**

**A.12.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 35 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой.

**A.12.2 Приготовление основного раствора охратоксина А массовой концентрации 0,5 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. A.12.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора охратоксина А массовой концентрации 50 мг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

**A.12.3 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. A.12.1), вносят 2 см<sup>3</sup> основного раствора охратоксина А (см. A.12.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,01 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.12.4 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 5 (см. A.12.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.12.1) и перемешивают.

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

**A.12.5 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 4 (см. A.12.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.12.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,002 мг/дм<sup>3</sup>.

**A.12.6 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 3 (см. A.12.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.12.1) и перемешивают.

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

**A.12.7 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 2 (см. A.12.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. A.12.1) и перемешивают.

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

### **А.13 Приготовление основного и градуировочных растворов фумонизина В<sub>1</sub>**

#### **А.13.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 5 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

#### **А.13.2 Приготовление основного раствора фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 0,5 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.13.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 50 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

#### **А.13.3 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.13.1), вносят 13,34 см<sup>3</sup> основного раствора фумонизина В<sub>1</sub> (см. А.13.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,0667 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.4 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 4**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят около 30 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 5 (см. А.13.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,02 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.5 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 3**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 33,3 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.13.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,0067 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.6 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 2**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят около 30 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 3 (см. А.13.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,002 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.7 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 1**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят около 30 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 2 (см. А.13.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,00067 мг/дм<sup>3</sup>.

### **А.14 Приготовление основного и градуировочных растворов Т-2 токсина**

#### **А.14.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

#### **А.14.2 Приготовление основного раствора Т-2 токсина массовой концентрации 1 мкг/см<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.14.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора Т-2 токсина массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

#### **А.14.3 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 10 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.14.1), вносят 5 см<sup>3</sup> основного раствора Т-2 токсина (см. А.14.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,05 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.14.4 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 5 (см. А.14.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,025 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.14.5 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 4 (см. А.14.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

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

#### **А.14.6 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 2**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 25 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 3 (см. А.14.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,0025 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.14.7 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 1**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 20 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 2 (см. А.14.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают. Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,0005 мг/дм<sup>3</sup>».

(ИУС № 12 2021 г.)



Изменение № 1 ГОСТ 34108—2017 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания микотоксинов прямым твердофазным конкурентным иммуноферментным методом

Принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 141-п от 30.06.2021)

Зарегистрировано Бюро по стандартам МГС № 15641

За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: AM, BY, KG, KZ, RU, TJ, UZ [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166) 004]

Дату введения в действие настоящего изменения устанавливают указанные национальные органы по стандартизации\*

Содержание. Наименование приложения А дополнить словами: «для тест-системы № 1 и тест-системы № 2».

Раздел 2. ГОСТ 6709 дополнить знаком сноски — \*;  
дополнить сноской \*:

«  
\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144—2018»;

ГОСТ 6995. Наименование перед словами «Метанол-яд» дополнить словом: «Реактивы.»;

ГОСТ 29169. Дополнить обозначением: «(ИСО 648—77)»;

заменить ссылки: «ГОСТ ИСО 5725-1\*\*» на «ГОСТ ИСО 5725-1—2003\*\*»; «ГОСТ ИСО 5725-6\*\*\*» на «ГОСТ ИСО 5725-6—2003\*\*\*».

Раздел 4 изложить в новой редакции:

«Сущность метода заключается в извлечении микотоксинов из проб экстрагентом, проведении в ячейках планшета реакции, в результате которой образуются окрашенные комплексы, добавлении останавливающего реактива, измерении значений оптической плотности и вычисления результатов.

Для определения микотоксинов используют один из двух вариантов тест-систем.

Метод с использованием тест-системы № 1 с двумя планшетами предусматривает смешивание конъюгата и экстрактов проб или градуировочных растворов в первом планшете и проведение реакции во втором планшете с нанесенными (иммобилизованными) на поверхность ячеек планшета специфическими антителами (далее — АТ), после инкубации и отмывки носителя от несвязавшихся компонентов вносят субстрат, в результате реакции с которым образуются окрашенные комплексы.

Метод с использованием тест-системы № 2 с одним планшетом предусматривает дозирование экстрактов проб или градуировочных растворов, конъюгата и специфических АТ в лунки планшета с иммобилизованными неспецифическими АТ. После инкубации и отмывки носителя от несвязавшихся компонентов вносят субстрат, в результате реакции с которым образуются окрашенные комплексы».

Раздел 10. Пункт 10.3. Первый абзац. Исключить слова: «, в состав которой входят.»;

дополнить словами (после первого абзаца): «Тест-система № 1 включает.»;

примечание. Заменить слова: «с приложением А» на «с А.2—А.7 (см. приложение А)»;

дополнить абзацем и примечанием (после примечания):

«Тест-система № 2 включает:

- планшет разборный с микролунками с иммобилизованными неспецифическими АТ;
- флакон с раствором конъюгата;
- флакон с раствором специфических АТ;
- флакон с останавливающим раствором;
- флакон с раствором субстрата;
- флакон с разбавителем проб;
- флакон с промывочным раствором;
- градуировочные растворы, содержащие микотоксины разной концентрации для градуировки тест-системы № 2.

\* Дата введения в действие на территории Российской Федерации — 2022—01—01.



**Примечание** — Допускается вместо градуировочных растворов, входящих в состав тест-системы, использовать градуировочные растворы микотоксинов, приготовленные в соответствии с А.9—А.14 (см. приложение А) из стандартных образцов:

- раствор афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 3 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор дезоксиниваленола массовой концентрации 200 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор зеараленона массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор ократоксина А массовой концентрации 50 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор Т-2 токсина массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>;
- раствор фумонизина массовой концентрации 500 мкг/см<sup>3</sup>;

дополнить примечанием (после последнего абзаца):

«Примечание — Допускается использование тест-систем различных производителей, позволяющих обеспечить необходимую точность результатов определений согласно разделу 15. Применять рекомендованные ими способы подготовки проб и постановки иммуноферментного анализа следует в соответствии с инструкцией изготовителя».

Пункт 10.9 после слов «переменного объема 30—300 мм<sup>3</sup>» дополнить словами: «или шаговая пипетка (далее — степпер) с шагом дозирования 50, 100 мм<sup>3</sup>».

Пункт 10.23 изложить в новой редакции:

«10.23 Вials вместимостью 5—10 см<sup>3</sup> или пробирки типа Эппендорф для разбавления экстрактов».

Раздел 11. Подраздел 11.3. Восьмой абзац после слов «пипеточный дозатор» дополнить словами: «или степпер».

Пункт 11.4.2. Наименование. Исключить слова: **«для определения содержания ДОН»**;

дополнить абзацем (после наименования): «Приготовление промывочного раствора для определения содержания ДОН для тест-системы № 1»;

дополнить абзацами (после последнего):

«Приготовление промывочного раствора для определения содержания микотоксинов для тест-системы № 2

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают 100 см<sup>3</sup> концентрированного промывочного раствора из комплекта реактивов к тест-системе. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре не более одной недели или при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 мес.

Пункт 11.4.3. Первый абзац изложить в новой редакции:

«Для построения градуировочной характеристики каждого микотоксина используют входящие в соответствующий набор тест-системы градуировочные растворы различной концентрации: один раствор, не содержащий микотоксин (далее — нулевая точка), и четыре градуировочных раствора различной концентрации микотоксина для тест-системы № 1 или пять градуировочных растворов для тест-системы № 2. Содержание микотоксинов в градуировочных растворах тест-системы № 1 приведено в таблице А.1, тест-системы № 2 — в таблице А.2 (см. приложение А);

третий абзац изложить в новой редакции:

«Допускается готовить градуировочные растворы из стандартных образцов микотоксинов для тест-системы № 1 в соответствии с А.2—А.7, для тест-системы № 2 — в соответствии с А.9—А.14 (см. приложение А)».

Раздел 12. Подраздел 12.1 дополнить абзацем (после наименования):

«Экстрагирование»;

первый абзац после слов «(см. таблицу 1)» дополнить словами. «При использовании тест-системы № 2 для определения ократоксина А к пробе добавляют 50 см<sup>3</sup> экстрагента»;

после слова «Закрывают» дополнить словом: «колбу»;

примечания. Примечание 1. Исключить соотношение: «1 : 5»;

дополнить примечанием 4:

«4 Допускается вместо фильтрации через бумажный фильтр проводить центрифугирование при 3000 г в течение 5 мин»;

таблицу 1 изложить в новой редакции:

«Таблица 1

Наименование микотоксина	Экстрагент	Коэффициент разбавления $f_1$ для тест-системы	
		№ 1	№ 2
Афлатоксин В <sub>1</sub>	Раствор А (см. 11.4.1)	2	2
Сумма афлатоксинов	Раствор А (см. 11.4.1)	1	2
ДОН	Дистиллированная вода	4	5
Зеараленон	Раствор А (см. 11.4.1)	5	2
Охратоксин А	Раствор А (см. 11.4.1)	1	—
	Дистиллированная вода	—	2
Т-2 токсин	Раствор А (см. 11.4.1)	1	7
Сумма фумонизинов	Раствор А (см. 11.4.1)	20	15

»;

дополнить абзацем (после таблицы 1):

«Разбавление экстрактов для тест-системы № 1»;

дополнить абзацами (после последнего):

«Далее проводят градуировку и анализ экстрактов проб по 12.2.

Разбавление экстрактов для тест-системы № 2

Фильтраты для определения содержания разбавляют в соответствии с таблицей 1 и далее используют для дальнейшего проведения испытания по 12.2.

Разбавление экстракта для определения содержания афлатоксина В<sub>1</sub>, суммы афлатоксинов, охратоксина А, зеараленона разбавителем проб проводят следующим образом: в пробирку типа Эппендорф дозатором помещают 500 мм<sup>3</sup> разбавителя проб, вносят 500 мм<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

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

Разбавление экстракта для определения содержания ДОН проводят следующим образом: в пробирку типа Эппендорф дозатором помещают 400 мм<sup>3</sup> разбавителя проб, вносят 100 мм<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают.

Разбавление экстракта для определения содержания суммы фумонизинов проводят следующим образом: в пробирку типа Эппендорф дозатором помещают 700 мм<sup>3</sup> разбавителя проб, вносят 50 мм<sup>3</sup> фильтрата, перемешивают».

Подраздел 12.2 дополнить абзацем (после наименования):

«Проведение градуировки и анализа экстрактов проб для тест-системы № 1»;

первый абзац после слов «для смешивания реактивов» дополнить словами:

«(схема расположения лунок приведена в приложении Б)»;

третий абзац. Заменить слова: «В остальные лунки первого планшета» на «Затем»;

таблицу 2 изложить в новой редакции:

«Таблица 2

Наименование микотоксина	Разбавляющий раствор	Время инкубации с раствором конъюгата, мин	Время инкубации с раствором конъюгата и раствором специфических АТ, мин	Время инкубации с раствором субстрата, мин		Промывочный раствор		Длина волны, нм	
		тест-система № 1	тест-система № 2	тест-система № 1	тест-система № 2	тест-система № 1	тест-система № 2	тест-система № 1	тест-система № 2
Афлатоксин В <sub>1</sub>	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Сумма афлатоксинов	Раствор А (см. 11.4.1)	15	5	5	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450	620
ДОН	Дистиллированная вода	15	10	5	5	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450	620
Зеараленон	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Охратоксин А	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Т-2 токсин	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	5	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450*	620
Сумма фумонизинов	Раствор А (см. 11.4.1)	10	10	10	5	Дистиллированная вода	Промывочный раствор (см. 11.4.2)	450	620
* Допускается использование дифференциального фильтра на 630 нм.									

восьмой, девятый абзацы. После слов «восьмиканальный дозатор» дополнить словами: «или степлер»;

дополнить абзацами (после последнего примечания).

«Далее проводят построение и оценку градуировочной характеристики по 12.3.

Проведение градуировки и анализа экстрактов проб для тест-системы № 2

Анализ градуировочных растворов и экстрактов проб проводят одновременно. В рамку планшета помещают необходимое количество бесцветных стрипов с неспецифичными антителами.

Отмеряют необходимое количество раствора конъюгата и специфичных АТ (примерно 70 мм<sup>3</sup> на лунку или 560 мм<sup>3</sup> на стрип) и помещают в отдельные емкости (или в специальные кюветы при использовании восьмиканального пипеточного дозатора). В лунки планшета вносят по 100 мм<sup>3</sup> каждого градуировочного раствора или экстракта пробы (по 50 мм<sup>3</sup> для охратоксина и суммы афлатоксинов), используя для каждого раствора новый наконечник, добавляют с помощью степлера 50 мм<sup>3</sup> конъюгата, 50 мм<sup>3</sup> специфичных АТ.

Примечание — Следует строго соблюдать последовательность внесения реактивов.

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

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

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

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

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

**Примечание** — Перед фотометрией нужно избавиться от воздушных пузырьков в лунке, поскольку они могут повлиять на результат анализа».

Подраздел 12.3. Четвертый абзац. Заменить слово: «Вычисляют» на «Для тест-системы № 1 вычисляют»;

рисунок 1. Наименование дополнить словами: «для тест-системы №1»;

формулы (3) и (4). Пояснения символов  $D_i$  и  $C_i$ . Заменить слова: «для  $i$ -го раствора» на «для  $i$ -го градуировочного раствора»;

таблицу 3 изложить в новой редакции:

«Таблица 3

В процентах

Наименование микотоксина	Норматив контроля		
	$g_1$		$g_2$
	тест-система № 1	тест-система № 2	
Афлатоксин В <sub>1</sub>	10	2	—
Сумма афлатоксинов	10	2	—
ДОН	12	2	—
Зеараленон	10	2	—
Охратоксин А	18	2	97
Т-2 токсин	11	2	—
Сумма фумонизинов	10	2	95

дополнить абзацами (после таблицы 3):

«Для тест-системы № 2 определяют процент связывания микотоксина для каждого градуировочного раствора относительно нулевой точки по формуле (1). Полученные значения являются координатами точек градуировочной характеристики по оси Y. Значения массовой концентрации (содержание) микотоксина  $C_i$  каждого градуировочного раствора являются координатами точек градуировочной характеристики по оси X.

По значениям  $X_i$  и  $Y_i$  методом наименьших квадратов строят градуировочную характеристику, которая описывается уравнением

$$Y = \frac{D_{rp}}{D_0} \cdot 100 = h + \frac{a - h}{1 + \left(\frac{C_i}{q}\right)^b}, \quad (5a)$$

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

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$C_i$  — массовая концентрация (содержание) микотоксина  $i$ -го градуировочного раствора, мг/дм<sup>3</sup> (мг/кг);

$a, b, h, q$  — коэффициенты градуировочного уравнения.

**Примечание** — Коэффициенты градуировочного уравнения (5a) вычисляют с применением метода наименьших квадратов. Для поиска решения нелинейной задачи может использоваться, например, метод обобщенного приведенного градиента или симплекс-метод. Для автоматизации расчетов коэффициентов градуировочного уравнения допускается использовать надстройку «Поиск решения» в программе Microsoft Excel.

Пример градуировочной характеристики, описываемой уравнением (5a), представлен на рисунке 2.

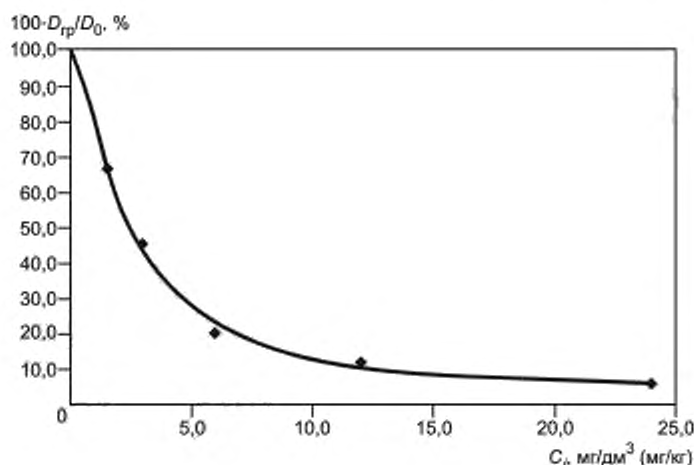


Рисунок 2 — Пример градуировочной характеристики для тест-системы № 2

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

$$C_{i, \text{изм}} = q \cdot \left( \frac{\frac{a - h}{\frac{D_i}{D_0} \cdot 100 - h}}{1} - 1 \right)^{\frac{1}{b}}, \quad (56)$$

где  $D_i$  — измеренное значение оптической плотности для раствора с массовой концентрацией (содержанием) микотоксина  $C_i$ .

Градуировочную характеристику признают стабильной, если выполняется условие (5).

Раздел 13. Пункт 13.1. Заменить слова: «13.1 Если концентрация градуировочных растворов» на «13.1 Обработка результатов для тест-системы № 1»

Если концентрация градуировочных растворов;

формула (8). Пояснение символа  $C_{пр}$ . Заменить слова: «по формуле (6)» на «по формуле (7) или (86)»;

дополнить подразделом 13.3 и пунктом 13.4:

### «13.3 Обработка результатов для тест-системы № 2

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

$$X_1 = q \cdot \left( \frac{a - h}{\frac{D_{np}}{D_0} \cdot 100 - h} - 1 \right)^{\frac{1}{b}}, \quad (8a)$$

где  $D_{np}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$a, b, h, q$  — коэффициенты градуировочного уравнения.

13.4 Вычисляют массовую концентрацию микотоксина в экстракте пробы  $C_{np}$ , мг/дм<sup>3</sup>, по формуле

$$C_{np} = q \cdot \left( \frac{a - h}{\frac{D_{np}}{D_0} \cdot 100 - h} - 1 \right)^{\frac{1}{b}}, \quad (8б)$$

где  $D_{np}$  — измеренное значение оптической плотности для экстракта пробы;

$D_0$  — измеренное значение оптической плотности для нулевой точки;

$a, b, h, q$  — коэффициенты градуировочного уравнения.

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

Содержание микотоксина в пробе  $X_2$ , мг/кг (млн<sup>-1</sup>), вычисляют по формуле (8).

Обработка результатов может проводиться автоматически с помощью программного обеспечения».

Раздел 14. Второй абзац. Заменить слова: «по формулам (7) или (8)» на «по формуле «(6) или (8), или (8а)»;

формула (9). Пояснение символа  $\bar{X}$ . Заменить слова: «по формуле «(6) или (8)» на «по формуле (6) или (8), или (8а)»;

заменить единицу измерения: «%» на «мг/кг (млн<sup>-1</sup>)»;

таблица 4. Графа «Наименование микотоксина». Заменить наименование: «Т-2» на «Т-2 токсин».

Раздел 15. Подраздел 15.1. Второй абзац. Заменить ссылку: «ГОСТ ИСО 5725-1 (подраздел 3.14)» на «ГОСТ ИСО 5725-1—2003 (подраздел 3.14)»;

формула (10). Пояснение символа  $\bar{X}$ . Заменить слова: «по формуле (6) или (8)» на «по формуле (6) или (8), или (8а)»;

последний абзац. Заменить ссылку: «ГОСТ ИСО 5725-6 (раздел 5)» на «ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (раздел 5)».

Приложение А. Наименование дополнить словами: «для тест-системы № 1 и тест-системы № 2»;

пункт А.1. Первый абзац после слов «градуировочной характеристики» дополнить словами: «для тест-системы № 1»;

заменить слова: «(см. таблицу 3)» на «(см. таблицу 2)»;

дополнить подразделами А.8—А.14:

«А.8 Для построения градуировочной характеристики для тест-системы № 2 используют разбавляющий раствор (см. таблицу 2) в качестве нулевой точки и пять градуировочных растворов, значения массовой концентрации микотоксинов в которых приведены в таблице А.2. Порядок приготовления градуировочных растворов приведен в А.9—А.14.



Таблица А.2

Наименование показателя	Номер градуировочного раствора				
	1	2	3	4	5
Номинальная массовая концентрация афлатоксина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,00015	0,0003	0,0006	0,0012	0,0024
Содержание афлатоксина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах в пересчете на содержание афлатоксина В <sub>1</sub> в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 1, мкг/кг	1,5	3,0	6,0	12,0	24,0
Номинальная массовая концентрация ДОН в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,008	0,02	0,04	0,08	0,2
Содержание ДОН в градуировочных растворах в пересчете на содержание ДОН в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 4, мкг/кг	200	500	1000	2000	5000
Номинальная массовая концентрация зеараленона в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,001	0,0025	0,0075	0,02	0,05
Содержание зеараленона в градуировочных растворах в пересчете на содержание зеараленона в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1:1, мкг/кг	10	25	75	200	500
Номинальная массовая концентрация ократоксина А в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0004	0,001	0,002	0,004	0,01
Содержание ократоксина А в градуировочных растворах в пересчете на содержание ократоксина А в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1:1, мкг/кг	2	5	10	20	50
Номинальная массовая концентрация Т-2 токсина в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,0005	0,0025	0,01	0,025	0,05
Содержание Т-2 токсина в градуировочных растворах в пересчете на содержание Т-2 токсина в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1:6, мкг/кг	17,5	87,5	350	875	1750
Номинальная массовая концентрация фумонизина В <sub>1</sub> в градуировочных растворах, мг/дм <sup>3</sup>	0,00067	0,002	0,0067	0,02	0,0667
Содержание фумонизина в градуировочных растворах в пересчете на содержание фумонизина В <sub>1</sub> в пробе при массе навески 20 г и разбавлении экстракта 1 : 14, мкг/кг	0,05	0,15	0,5	1,5	5

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

$$C_{гр} = \frac{C_0 \cdot V_0}{V_i}, \quad (A.3)$$

где  $C_0$  — действительное значение массовой концентрации микотоксина в растворе, взятом для разбавления, мг/дм<sup>3</sup>;

$V_0$  — объем раствора микотоксина, взятый для разбавления, см<sup>3</sup>;

$V_i$  — объем приготовленного градуировочного раствора, см<sup>3</sup>.

#### **А.9 Приготовление градуировочных растворов афлатоксина В<sub>1</sub>**

##### **А.9.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 35 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

##### **А.9.2 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.9.1), вносят 80 мм<sup>3</sup> раствора афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 3 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.



Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0024 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.3 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 5 (см. А.9.2), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0012 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.4 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.9.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0006 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.5 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 3 (см. А.9.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,0003 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.9.6 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> № 2 (см. А.9.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.9.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> — 0,00015 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10 Приготовление градуировочных растворов ДОН**

**А.10.1 Приготовление основного раствора ДОН массовой концентрации 2 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов из набора реактивов для тест-системы № 2, вносят 1 см<sup>3</sup> раствора ДОН массовой концентрации 200 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

**А.10.2 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 5**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> наливают около 10 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов, вносят 2,5 см<sup>3</sup> основного раствора ДОН (см. А.10.1). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,2 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.3 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 5 (см. А.10.2), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,08 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.4 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 4 (см. А.10.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,04 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.5 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 3 (см. А.10.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации ДОН — 0,02 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.10.6 Приготовление градуировочного раствора ДОН № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора ДОН № 2 (см. А.10.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

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

**А.11 Приготовление основного и градуировочных растворов зеараленена**

**А.11.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 35 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

**А.11.2 Приготовление основного раствора зеараленена массовой концентрации 1 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.11.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора зеараленена массовой концентрации 100 мг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

**А.11.3 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.11.1) вносят 5 см<sup>3</sup> основного раствора зеараленона (см. А.11.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,05 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.11.4 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 5 (см. А.11.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.11.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,02 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.11.5 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 3**

В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 3,75 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 4 (см. А.11.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.11.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,0075 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.11.6 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 2**

В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 3,33 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 3 (см. А.11.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.11.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации зеараленона — 0,0025 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.11.7 Приготовление градуировочного раствора зеараленона № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора зеараленона № 2 (см. А.11.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.11.1) и перемешивают.

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

**А.12 Приготовление основного и градуировочных растворов охратоксина А**

**А.12.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 35 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой.

**А.12.2 Приготовление основного раствора охратоксина А массовой концентрации 0,5 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.12.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора охратоксина А массовой концентрации 50 мг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

**А.12.3 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.12.1), вносят 2 см<sup>3</sup> основного раствора охратоксина А (см. А.12.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,01 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.12.4 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 5 (см. А.12.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.12.1) и перемешивают.

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

**А.12.5 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 4 (см. А.12.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.12.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации охратоксина А — 0,002 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.12.6 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 2**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 3 (см. А.12.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.12.1) и перемешивают.

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

**А.12.7 Приготовление градуировочного раствора охратоксина А № 1**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора охратоксина А № 2 (см. А.12.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.12.1) и перемешивают.

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

### **А.13 Приготовление основного и градуировочных растворов фумонизина В<sub>1</sub>**

#### **А.13.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 5 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

#### **А.13.2 Приготовление основного раствора фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 0,5 мг/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.13.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора фумонизина В<sub>1</sub> массовой концентрации 50 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

#### **А.13.3 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.13.1), вносят 13,34 см<sup>3</sup> основного раствора фумонизина В<sub>1</sub> (см. А.13.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,0667 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.4 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 4**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят около 30 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 5 (см. А.13.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,02 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.5 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 3**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 33,3 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 4 (см. А.13.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,0067 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.6 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 2**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят около 30 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 3 (см. А.13.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,002 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.13.7 Приготовление градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 1**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят около 30 см<sup>3</sup> градуировочного раствора фумонизина В<sub>1</sub> № 2 (см. А.13.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов (см. А.13.1) и перемешивают.

Значение массовой концентрации фумонизина В<sub>1</sub> — 0,00067 мг/дм<sup>3</sup>.

### **А.14 Приготовление основного и градуировочных растворов Т-2 токсина**

#### **А.14.1 Приготовление разбавителя стандартов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> метанола, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем проб.

#### **А.14.2 Приготовление основного раствора Т-2 токсина массовой концентрации 1 мкг/см<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 40 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.14.1), вносят 1 см<sup>3</sup> раствора Т-2 токсина массовой концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup>. Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

#### **А.14.3 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 5**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают около 10 см<sup>3</sup> разбавителя стандартов (см. А.14.1), вносят 5 см<sup>3</sup> основного раствора Т-2 токсина (см. А.14.2). Содержимое колбы перемешивают, объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,05 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.14.4 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 4**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 12,5 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 5 (см. А.14.3), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,025 мг/дм<sup>3</sup>.

#### **А.14.5 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 3**

В мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 10 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 4 (см. А.14.4), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

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

#### **А.14.6 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 2**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 25 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 3 (см. А.14.5), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают.

Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,0025 мг/дм<sup>3</sup>.

**А.14.7 Приготовление градуировочного раствора Т-2 токсина № 1**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 20 см<sup>3</sup> градуировочного раствора Т-2 токсина № 2 (см. А.14.6), объем раствора в колбе доводят до метки разбавителем стандартов и перемешивают. Значение массовой концентрации Т-2 токсина — 0,0005 мг/дм<sup>3</sup>».

(ИУС № 12 2021 г.)