

ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(EACC)  
EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(EASC)



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
EN 15791—  
2015

НИФСиТР ЦСМ при МЭ КР

**РАБОЧИЙ  
ЭКЗЕМПЛЯР**

КОРМА

Определение дезоксиниваленола методом  
/высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)  
с очисткой на иммуноаффинной колонке

(EN 15791:2009, IDT)

Издание официальное

Зарегистрирован  
№ 10783

27 февраля 2015 г.



Минск

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации

## **Предисловие**

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены».

### **Сведения о стандарте**

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 февраля 2015 г. № 75-П)

За принятие стандарта 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
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен европейскому стандарту EN 15791:2009 Foodstuffs — Determination of Deoxynivalenol in animal feed — HPLC method with immunoaffinity column clean-up (Продукция пищевая. Определение дезоксизиваленола в кормах для животных. Метод ВЭЖХ с очисткой на иммуноаффинной колонке).

Европейский стандарт разработан техническим комитетом по стандартизации CEN/TC 327 «Корма» Европейского комитета по стандартизации (CEN).

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры европейского стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и европейского стандарта, на который даны ссылки, имеются в Госстандарте Республики Беларусь.

В разделе «Нормативные ссылки» и тексте стандарта ссылки на европейский стандарт актуализированы.

В стандарт внесено следующее редакционное изменение: наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования европейского стандарта в целях увязки с существующей группой межгосударственных стандартов.

Сведения о соответствии межгосударственного стандарта ссылочному европейскому стандарту приведены в дополнительном приложении Д.А.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

### **5 ВВЕДЕНИЕ В ПЕРВЫЕ**

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

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

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств.

## М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

## КОРМА

**Определение дезоксиваленола методом высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с очисткой на иммуноаффинной колонке**

Animal feed

Determination of deoxynivalenol by high performance liquid chromatographic (HPLC) method with immunoaffinity column clean-up

Дата введения

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на метод определения дезоксиваленола (ДОН) в комбикормах при концентрациях от 150 до 4000 мкг/кг.

## 2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходим следующий ссылочный стандарт. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения).

EN ISO 3696:1995 Water for analytical laboratory use. Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

## 3 Сущность метода

Дезоксиваленол (ДОН) экстрагируют из продукта, используя воду. Затем водный экстракт очищают на иммуноаффинной колонке, чтобы удалить примеси из пробы. Затем ДОН количественно определяют методом ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектором.

## 4 Реактивы

Для проведения анализа, если не указано иное, используют только реактивы признанной аналитической чистоты и воду не ниже первой степени чистоты по EN ISO 3696. Качество растворителей должно соответствовать требованиям растворителей для ВЭЖХ.

### 4.1 Ацетонитрил.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — Ацетонитрил опасен, поэтому работать с ним необходимо в вытяжном шкафу. Необходимо использовать средства индивидуальной защиты (лабораторный халат, очки, перчатки).

### 4.2 Дезоксиваленол (ДОН), чистотой не менее 97 %.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — Дезоксиваленол высокотоксичен. Все время необходимо носить перчатки и очки, а все работы по подготовке пробы и стандартного образца необходимо выполнять в вытяжном шкафу.

### 4.3 Метанол.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — Метанол опасен, поэтому работать с ним необходимо в вытяжном шкафу. Необходимо использовать средства индивидуальной защиты (лабораторный халат, очки, перчатки).

### 4.4 Ледяная уксусная кислота.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — Ледяная уксусная кислота опасна, поэтому работать с ней необходимо в вытяжном шкафу. Необходимо носить соответствующие средства защиты (лабораторный халат, очки, перчатки).

### 4.5 Подвижная фаза.

Смешивают 15 объемных частей метанола (4.3) с 84,9 объемной части воды и 0,1 объемной части ледяной уксусной кислоты (4.4). Точное количество используемого метанола и необходимость использования уксусной кислоты зависят от выбранной для анализа ВЭЖХ колонки. При необходимости регулируют количество метанола. Дегазируют раствор перед его применением.

#### 4.6 Промывной растворитель.

Смешивают 50 объемных частей метанола (4.3) с 50 объемными частями воды.

#### 4.7 Исходный раствор ДОН.

Раствор содержит 250 мкг дезоксиваленола на 1 мл ацетонитрила.

Раствор можно приготовить следующим образом: добавляют 4,0 мл ацетонитрила (4.1) в 5 мг ДОН (4.2) для получения раствора с концентрацией 1,25 мг/мл. Разбавляют 1000 мкл раствора с концентрацией 1,25 мг/мл до 5 мл ацетонитрилом для получения исходного раствора с концентрацией 250 мкг/мл. Разбавляют 200 мкл исходного раствора с концентрацией 250 мкг/мл в мерной колбе вместимостью 2,0 мл (5.11) ацетонитрилом, чтобы получить разбавленный исходный раствор с концентрацией 25 мкг/мл.

Для того чтобы определить точную концентрацию, измеряют значения оптической плотности данного разбавленного исходного раствора с концентрацией 25 мкг/мл при помощи спектрофотометра (5.15) в диапазоне 200–270 нм в кварцевой кювете с оптической длиной пути 1 см, а в качестве эталона используют ацетонитрил (4.1). Измеряют оптическую плотность при 220 нм. Рассчитывают массовую концентрацию дезоксиваленола  $\rho_{\text{DON}}$ , мкг/мл, по формуле (1):

$$\rho_{\text{DON}}(25 \text{ мкг/мл}) = \frac{A_{\max} \cdot M \cdot 100}{k \cdot d}, \quad (1)$$

где  $A_{\max}$  — оптическая плотность, измеренная при максимальном значении на кривой оптической плотности (220 нм);

$M$  — молярная масса дезоксиваленола ( $M = 296,3 \text{ г/моль}$ );

$k$  — молярный коэффициент поглощения дезоксиваленола в ацетонитриле (4.1),  
( $681,0 \pm 12,6 \text{ м}^2/\text{моль}$ ) ([1]);

$d$  — оптическая длина пути кварцевой кюветы, см (1 см).

Рассчитывают точную концентрацию исходного раствора с концентрацией 250 мкг/мл по следующей формуле:

$$\rho_{\text{DON}}(250 \text{ мкг/мл}) = \rho_{\text{DON}}(25 \text{ мкг/мл} \cdot 10). \quad (2)$$

Исходный раствор хранят в темном месте не более 3 мес при температуре 4 °C – 8 °C или не более 6 мес при температуре ниже минус 18 °C.

П р и м е ч а н и е — Приготовление исходного раствора можно выполнять гравиметрически, при этом точно взвешивают стандартный образец ДОН и растворитель, используемый для его растворения.

#### 4.8 Раствор для обогащения дезоксиваленолом.

Пипеткой переносят аликовту исходного раствора ДОН (4.7), эквивалентную 500 мкг ДОН, в мерную колбу вместимостью 5 мл (5.11). Объем содержимого в колбе доводят до метки ацетонитрилом (4.1). Получают обогащающий раствор с концентрацией 100 мкг/мл.

#### 4.9 Рабочий раствор ДОН.

Пипеткой переносят аликовту разбавленного исходного раствора ДОН (4.7), эквивалентную 50 мкг ДОН, в мерную колбу вместимостью 5 мл (5.11). Объем содержимого в колбе доводят до метки ацетонитрилом (4.1). Получают рабочий раствор ДОН с концентрацией 10 мкг/мл.

#### 4.10 Градуировочные растворы ДОН.

Градуировочные растворы готовят из рабочего раствора с концентрацией ДОН 10 мкг/мл (4.9). Добавляют объемы рабочего раствора с концентрацией ДОН 10 мкг/мл (4.9), приведенные в таблице 1, в мерные колбы вместимостью 10 мл (5.11). Объем содержимого в колбах доводят до метки подвижной фазой (4.5). Допускаются отклонения, поскольку самый низкий уровень выше предела детектирования, самый высокий уровень не ведет к насыщению сигнала детектора, и существует еще не менее двух уровней, равноудаленных друг от друга.