

Ön söz

Dövlətlərarası standartlaşdırma uyğun işin məqsədləri, əsas prinsipləri və ümumi qaydaları ГОСТ 1.0 "Dövlətlərarası standartlaşdırma sistemi ilə müəyyən edilir.Əsas müddəalar" və ГОСТ 1.2 "Dövlətlərarası standartlaşdırma sistemi. Dövlətlərarası standartlaşdırma üçün dövlətlərarası standartlar, qaydalar və tövsiyələr.Hazırlamaq, qəbul etmək, yeniləmək və ləğv etmək qaydaları".

Standart haqqında məlumat

1 "Lumex Marketing" Üzvi Məsuliyyətli Cəmiyyəti tərəfindən hazırlanıb (ООО "Lumex Marketing")

2 Texniki Tənzimləmə və Metrologiya uyğun Federal Agentlik tərəfindən təqdim edilmişdir.

3 Standartlaşdırma, Metrologiya və Sertifikatlaşdırmaya uyğun Dövlətlərarası Şura tərəfindən qəbul edilmişdir (18 iyun 2015-ci il tarixli 47 nömrəli protokol)

Qəbul edilməsinə səs verdi

4 Texniki Tənzimləmə və Metrologiyaya uyğun Federal Agentliyin 21 iyul 2015-ci il tarixli 948 nömrəli əmri ilə 1 yanvar 2017-ci il tarixindən etibarən dövlətlərarası ГОСТ 33287-2015 standartı Rusiya Federasiyasının milli standartı olaraq qüvvəyə minmişdir.

5 İlk dəfə təqdim edilmişdir

6 Yenidən nəşr olunub. Noyabr 2019-cu il

Yuxarıda göstərilən dövlətlərin ərazisində bu standartın qüvvəyə minməsi (xitam verilməsi) və ona edilən dəyişikliklər haqqında məlumat bu dövlətlərdə dərc olunan milli standartların indekslərində, habelə müvafiq milli standartlaşdırmanın internet saytlarında dərc olunur. Bu standartta yenidən baxıldığı, dəyişdirildiyi və ya ləğv edildiyi halda müvafiq məlumat Standartlaşdırma, Metrologiya və Sertifikatlaşdırmaya uyğun Dövlətlərarası Şuranın rəsmi internet saytında "Dövlətlərarası Standartlar" kataloqunda dərc olunur.

Standartform.2016.2019

Mündəricat

1 Tətbiq sahəsi.....	1
2 Normativ istinadlar.....	1
3 Nümunənin sınaq üçün hazırlanması və götürülməsi.....	2
4 Təhlükəsizlik tədbirləri.....	2
5 Üsulun mahiyyəti.....	2
6 Ölçü vasitələri ,köməkçi avadanlıqlar, standart nümunələr ,reaktivlər, qablar və materiallar.....	2
7 Sınağın aparılması üçün hazırlıq.....	3
8 Sınağın aparılması.....	6
9 Sınaq nəticələrinin işlənməsi	8
10 Metroloji xüsusiyyətlər	8
11 Ölçü nəticələrinin keyfiyyətinə nəzarət.....	9
12 Sınaq nəticələrinin qeyd edilməsi	9
Əlavə A (tövsiyə olunan) Oxratoksin A-nın ötürülmə əmsalının təyini.....	10
Əlavə B (köməkçi) Xromotoqram nümunəsi.....	11

Şərab və şərab materialları

Yüksək effektivli maye xromatoqrafiyası ilə oxratoksin A-nın tərkibinin təyini

Wine and wine materials. Determination of ochratoxin A content by high performance liquid chromatography

Giriş tarixi -2017-01-01

1 Tətbiq sahəsi

Bu standart şərab və şərab materiallarına şamil edilir və yüksək effektivli maye xromatoqrafiyadan istifadə etməklə oxratoksin A-nın kütlə qatılığının müəyyən edilməsi metodunu müəyyən edir.(bundan sonra – YEMX).Oxratoksin A-nın kütlə qatılığının ölçmə diapazonu 0,001 ilə 0,1 mq/dm³ arasındadır.

2 Normativ istinadlar

Bu standartda aşağıdakı normativ istinadlardan istifadə edilir.

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования. Əməyin mühafizəsi standartları sistemi Yangın təhlükəsizliyi. Ümumi tələblər.

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Классификация и общие требования безопасности Əməyin mühafizəsi standartları sistemi.Təsnifat və ümumi təhlükəsizlik tələbləri.

ГОСТ 12.1.010 Система стандартов безопасности труда. Взрывобезопасность. Общие требования. Əməyin mühafizəsi standartları sistemi Partlayış təhlükəsizliyi. Ümumi tələblər.

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.Əməyin mühafizəsi standartları sistemi. Elektrik təhlükəsizliyi.Ümumi tələblər və mühafizə növlərinin nomenklaturası

ГОСТ 61 Кислота уксусная. Технические условия. Sirkə turşusu .Texniki şərtlər

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83. ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры,

мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия Laboratoriya şüşə ölçü qabları.Silindirlər, stəkanlar, kolbalar, sınaq boruları.Ümumi texniki şərtlər

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия.Reaktivlər.Kükürd turşusu .Texniki şərtlər

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия. Reaktivlər. Natrium xlorid. Texniki şərtlər

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия. Distillə edilmiş su. Texniki tələblər

ГОСТ 9293 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия. Qaz və maye azot. Texniki şərtlər

ГОСТ 16317 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия. Məişət elektrik soyuducu cihazları. Ümumi texniki şərtlər

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные. Типы. Основные параметры и размеры. Laboratoriya şüşə qabları və avadanlıqları. Növləri. Əsas parametrləri və ölçüləri

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования ГОСТ 29227 (ISO 835-1-81) Laboratoriya şüşə qabları Dərəcələnməmiş pipetkalar 1-ci hissə

ГОСТ 31730 Продукция винодельческая. Правила приемки и методы отбора проб Şərabşılıq məhsulları. Qəbul qaydaları və nümunə götürmə üsulları.

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания ГОСТ OIMLR 76-1. Ölçmələrin vahidliyini təmin edən dövlət sistemi. Avtomatlaşdırılmamış hərəkət tərziləri. 1-ci hissə. Metroloji texniki tələblər. Sınaqlar.

ГОСТ ISO 3696 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля Laboratoriya analizi üçün su .Texniki tələblər və nəzarət üsulları

ГОСТ ISO/IEC 17025 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий . Sınaq və kalibrləmə laboratoriyalarının səlahiyyətlərinə dair ümumi tələblər

ГОСТ ИСО 5725-6— 2003” Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений.

Часть 6. Использование значений точности на практике Üsulun dəqiqliyi və ölçülərin nəticələri. 6-cı hissə. təcrübədə dürüstlük qiymətinin istifadə edilməsi.

Qeyd - Bu standartdan istifadə edərkən, standartlaşdırma, sertifikatlaşdırma və metrologiya uyğun Dövlətlərarası Şuranın (www.easc.by) rəsmi saytında və ya dövlətlərdə dərc olunan milli standartların indekslərinə əsasən istinad standartlarının və təsnifatlandırıcıların etibarlılığını , ön söz, standarta uyğun müvafiq milli orqanların rəsmi internet saytlarında yoxlamaq məsləhətdir. Sənədə tarixsiz arayış verilsə, ona edilən bütün dəyişikliklər nəzərə alınmaqla cari sənəddən istifadə edilməlidir. İstinad edilən sənəd tarixli arayışla əvəz edilərsə, bu sənədin göstərilən variantından istifadə edilməlidir. Bu Beynəlxalq Standartın qəbulundan sonra tarixə istinad edilən sənəd istinad edilənin müddəasına təsir etmək üçün dəyişdirilərsə, həmin müddəa həmin dəyişikliyə baxmadan tətbiq edilir. İstinad edilən sənəd dəyişdirilmədən ləğv edilərsə, ona keçidin verildiyi müddəa bu keçidə təsir etməyən hissəyə şamil edilməlidir.

3 Nümunənin sınaq üçün hazırlanması və götürülməsi

ГОСТ 31730- üzrə nümunənin götürülməsi.

Tərkibində karbon qazı yüksək olan şərablar əvvəlcədən qazdan təmizlənir. Bunun üçün 100 sm³-lük tubuslu kolbaya 50 sm³ məhsul əlavə edilir. (bax 6.22), çalxalanır və vakuum nasosuna birləşdirilir (bax 6.6). Köpük yox olana və mayenin səthində böyük qovucular görünənə qədər 10-15 dəqiqə qazsızlaşdırılır.

4 Təhlükəsizlik tədbirləri.

Ölçmələr apararkən tələblərə əməl olunmalıdır.

ГОСТ 12.1.019 – üzrə xromatoqraf üçün texniki sənədlərin elektrik təhlükəsizliyi

ГОСТ 12.1.010- üzrə partlayış təhlükəsizliyi

ГОСТ 12.1.004- üzrə yanğın təhlükəsizliyi

ГОСТ 12.1.007- üzrə təhlükəli maddələrlə işləyərkən təhlükəsizlik

Xəbərdarlıq- Oxratoksin A böyrək və qaraciyərin zədələnməsinə səbəb olur və kanserogen hesab olunur. Nümunənin hazırlanması və oxratoksin A məhlullarının hazırlanması ilə bağlı

bütün işlər qoruyucu geyim, əlcək və eynəkdən istifadə edərək sorucu şkafda aparılmalıdır. Oxratoksin A ilə təmasda olmuş şüşə qabların zərərsizləşdirilməsi 4 %-li natrium hipoxloridin məhlulu ilə aparılır.

5 Üsulun mahiyyəti

Üsul turşulaşdırılmış metilənlorid ilə nümunədən oxratoksin A-nın çıxarılmasına, nəticədə əldə edilən ekstraktın qatılığına nümunələrin skrininginə və flüorimetrik aşkarlama ilə tərs fazalı sütunda YEMX istifadə edərək oxratoksin A-nın kütlə qatılığının təyin edilməsinə əsaslanır.

6 Ölçü vasitələri ,köməkçi avadanlıqlar, standart nümunələr ,reaktivlər, qablar və materiallar.

6.1 (300±20) nm spektral bölgədə flüoresansın həyəcanlandırılmasını və (465±20) nm spektral bölgədə flüoresans intensivliyinin qeydiyyatını təmin edən flüorimetrik və ya spektrofluorometrik detektoru olan maye xromatoqraf. İstifadə olunan detektor oxratoksin A-nın aşkarlanma həddinin 5 kq/sm³-dan çox olmamasını təmin etməlidir.

6.2 ГОСТ ОИМЛ R 76-1- üzrə mütləq xəta həddi ±0.01 qr-dan çox olmayan sadə tərəzi

6.3 Oxratoksin A zirvəsi üçün ən azı 5000 nəzəri lövhə səmərəliliyinə malik, hissəcik ölçüsü 5 mkm olan əks fazalı sorbentlə doldurulmuş xromatoqrafik analitik sütun

6.4 daxili diametri və analitik ilə eyni tərs fazalı sorbentlə doldurulmuş ön sütun

6.5 20 ilə 50 dərəcə arasında temperatur tənzimləyicisi olan su hamamı ilə təchiz olunmuş fırlanan buxarlandırıcı

6.6 ГОСТ 25336 üzrə 25 ilə 10 kPa arasında təzyiqli təmin edən membranlı və ya su şırnaqlı laboratoriya vakuum nasosu,

6.7 200 dərəcəni təmin edən quruducu şkaf.

6.8 ГОСТ 16317-üzrə məişət soyuducusu.

6.9 Fırlanma sürəti 5000 dövr/dəq -dən az olmayan laboratoriya sentrafuqası

6.10 Dövlətlərarası və ya metroloji cəhətdən təmin edilmiş Milli ölçmə sistemində standartı qəbul edən dövlətlər(Dövlət standart nümunəsi 11- məhlulun tərkibi kütlə qatılığ 50 mq/sm³ sertifikatlaşdırılmış qiyməti ±2.5 mq/sm³ çox olmayan xəta ilə aseton nitril məhlulunda oxratoksin A .Digər həlledicilərdə oxratoksin A tərkibli məhlulun standart nümunələrindən istifadə etməyə icazə verilir ki, bu da 7.3.1-ə uyğun olaraq ,ilkın məhlulun hazırlanması zamanı nəzərə alınmalıdır.

6.11 ГОСТ 6709-üzrə distillə suyu və ya ГОСТ İSO 3696 –üzrə təmizlik dərəcəsi 1 olan analiz üçün su .

6.12 ГОСТ 61-üzrə buzlu sirkə turşusu.

6.13, Distillə edilmiş suya nisbətən kütlə payı, 0,03%-dən optik sıxlığı 200 nm-də 0,025-dən çox olmayan, maye xromatoqrafiyası üçün asetonitril

6.14 Standartı qəbul etmiş dövlətin ərazisində qüvvədə olan normativ sənədlərə uyğun olaraq yüksək effektivli maye xromatoqrafiyası üçün dixlormetan

6.15 ГОСТ 4202 -üzrə sulfat turşusu k.t və ya t.ü.t.

6.16 ГОСТ 4233-üzrə natrium xlorid k.t.

6.17 ГОСТ 29227-üzrə 1-2-2-1,1-2-2-2, 1-2-2-5,1-2-2-10 və ya digər növlər üçün dərəcəli pipetlər

6.18 ГОСТ 1770-ə üzrə 1-25-2 1-50-2 1-250-2 ölçülü silindrlər və ya digərləri

6.19 ГОСТ 1770-üzrə 2-25-2 2-50-2 2-100-2 2-500-2 ölçülü kolbaları

6.20 ГОСТ 25336-üzrə O-10-14/23 və O -50-14/23 sivri uclu kolbalar.

6.21 ГОСТ 25336-üzrə P-1-50-29/32 P-100-29/32 P-200-29/32 P-250-29/32 və ya Kn 1-50-29/32 Kn 1-100-29/32 Kn 1-250-29/32 düz dibli kolbalar

6.22 ГОСТ 25336-üzrə 2-100-19/26 2-250 -29/32 tubuslu kolbalar

6.23 ГОСТ 25336-üzrə 50 sm³ tutumlu VD 1 və ya 3 versiyalı bölgülü qıflar

6.24 ГОСТ 25336-üzrə B tipli laboratoriya qıfları.

6.25 6.14 Standartı qəbul etmiş dövlətin ərazisində qüvvədə olan normativ sənədlərə uyğun olaraq kağız filtr“qırmızı lenta”.

6.26 Standartı qəbul etmiş dövlətin ərazisində qüvvədə olan normativ sənədlərə uyğun olaraq 25 50 250 1000 sm³ tutumlu cilalanmış şüşə ,ftoroplast və ya polietilen tıxaclar

6.27 Standartı qəbul etmiş dövlətin ərazisində qüvvədə olan normativ sənədlərə uyğun olaraq qum saati və ya saat

Yuxarıda göstərilənlərdən fərqli olmayan metroloji xüsusiyyətlərə malik digər ölçü vasitələrindən və texniki xüsusiyyətli köməkçi avadanlıqlardan, reaktivlərdən və materiallardan istifadə etməyə icazə verilir.

7 Sınağın aparılması üçün hazırlıq

7.1 Şüşə qabın hazırlanması

Mobil fazanın hazırlanması və saxlanması üçün qablar digər yuyucu vasitələrdən istifadə etmədən yalnız 6.15-ə uyğun olaraq sulfat turşusu ilə işlənir, adi suyu ilə yaxşıca yuyulur və distillə su ilə yaxalanır. Digər şüşə qablar yuyucu vasitələrlə isti su ilə işlənir, distillə suyu ilə yaxşıca yaxalanır və 105 dərəcə temperaturda quruducu şkafda qurudulur.

7.2 Köməkçi məhlulların hazırlanması

7.2.1 Mobil fazanın hazırlanması

1000 sm³ həcmli ağzı şüşə ilə cilalanmış ,ftorplast və ya polietilen tıxacla yaxşıca bağlanmış əvvəlcədən hazırlanmış şüşə qaba 5 sm³ buzlu sirkə turşusu (bax 6.12) ,215 sm³ asetonitril və 280 sm³ distillə suyu tökülür. Qarışıq hərtərəfli qarışdırılır. Mobil fazanın saxlanması zamanı rezin və ya mantar tıxacların istifadəsi qadağandır. Qarışıqın otaq temperaturunda saxlanma müddəti- 1 aydan çox olmur. Mobil faza istifadə edilməzdən əvvəl təmizlənir və xromotoqraf istehsalçısının tövsiyəsinə uyğun olaraq filtrasiya edilir.

7.2.2 200 həcm nisbətində dixlormetan və sirkə turşusu qarışığının hazırlanması

250 sm³ həcmli düz dibli kolbaya 200 sm³ dixlormetan (bax 6.14) və 1,0 sm³ buzlu sirkə turşusu tökülür.(bax 6.12).Şüşə ilə cilalanmış ftorplast və ya polietilen tıxaclı şüşə qabdakı qarışıq saxlanma müddəti otaq temperaturunda – 1 aydan çox olmamalıdır.

7.2.3 Kütlə payı 20 % olan natrium xlorid məhlulunun hazırlanması

200 sm³ həcmli düz dibli kolbaya 20 qr **natrium xlorid** yerləşdirilir (bax6.16),80 sm³ distillə suyu tökülür ,hərtərəfli qarışdırılır. Qarışıqın otaq temperaturunda saxlanma müddəti – 3 aydır.

7.3 Oxratoksin A məhlulunun hazırlanması

7.3.1 Nominal qiymətli kütlə qatılığı 1 mkq/sm olan oxratoksin A ilkin məhlulunun hazırlanması

Pipetlə 50 mkq/sm³ kütlə qatılığı olan asetonitrildə oxratoksin A məhlulunun tərkibindən 1 sm³ standart nümunə götürülür (bax 6.10), 50 sm³ tutumlu ölçülü kolbaya qoyulur və həcmi asetonitrilə uyğunlaşdırılır (bax 6.13).Hazırlanmış məhlulun 2-6 dərəcə temperaturda soyuducuda saxlanma müddəti- 6 aydan çox olmur.Oxratoksin A ilkin məhlulun faktiki qiymətinin kütlə qatılığı aşağıdakı düsturla **hesablanır** (C_{ucx} mkq / sm³)

$$C_{ucx} = \frac{C_{co} V_{co}}{V_{ucx}}$$

Harada C_{CO} -pasporta görə standart nümunədə oxratoksin A kütlə qatılığının təsdiq edilmiş qiyməti mkq/sm³

V_{CO} - ilkin məhlulun hazırlanması üçün seçilmiş oxratoksin A məhlulunun tərkibinin standart nümunəsinin həcmi sm³ (1 sm³)

V_{HCX} - ilkin məhlulun hazırlanması üçün istifadə olunan ölçü kolbasının həcmi sm³ (50 sm³)

Qeyd- Standart nümunədən istifadə edərkən, digər həlledicilərdə (1 sm³) oxratoksin A məhlulunun tərkibi 40-45 dərəcə su hamamında və ya azot axımında vakuumda quru qalığa buxarlanır. Quru qalıq 2 sm³ asetonitrildə həll edilir və 1 dəqiqə qarışdırılır. Sonra alınan məhlul kəmiyyətcə 50 sm³ tutumlu ölçülü kolbaya köçürülür və asetonitril ilə işarəyə qədər durulaşdırılır.

7.3.2 Nominal kütlə qatılığı 50 nq/sm³ olan hərəkətli fazada oxratoksin A məhlulunun hazırlanması

həcmi 50 sm³ olan ölçülü kolbaya 7.3.1-ə uyğun olan 2,5 sm³ oxratoksin A-nın əsas məhlulu köçürülür və 7.2.1-ə uyğun olaraq hərəkətli fazanın işarəsinə gətirilir. Hazırlanmış məhlulun saxlanma müddəti- soyuducuda 2-6 dərəcə temperaturda 3 aydan artıq olmamalıdır Oxratoksin A məhlulunun kütlə qatılığının faktiki qiyməti aşağıdakı düsturla hesablanır (C_0 nq/sm³)

$$C_0 = \frac{C_{HCX} V_{HCX}}{V_0} 1000$$

Harada C_{HCX} - oxratoksin A əsas məhlulunun kütlə qatılığının faktiki qiyməti (bax 7.3.1) mkq/sm³

V_{HCX} - bu məhlulun hazırlanması üçün 7.3.1 üzrə seçilmiş əsas məhlulun həcmi sm³ (25 sm³)

V_0 -əsas məhlulun hazırlanması üçün istifadə olunan ölçülü kolbanın həcmi (50 sm³)

1000- ölçü kütlə vahidinə uyğun əmsal

7.3.3 Dərəcəli Oxratoksin A məhlulunun hazırlanması

7.3.1-2 üzrə asetonitrildə oxratoksin A-nın əsas məhlulu tutumu 50 sm³ olan ölçülü kolbaya qoyulur. Oxratoksin A məhlulunun həcmi cədvəl 1-in tələblərinə uyğun olmalıdır.

Cədvəl 1

Məhlulun nömrəsi	7.3.1 üzrə əsas məhlulun həcmi sm ³	Kütlə qatılığının nominal qiyməti nq/sm ³
1	5.0	100
2	2.0	40
3	1.0	20
4	0.5	10
5	0.25	5

Kolbanın tərkibi cədvəl 1-ə uyğun olaraq 7.2.1-üzrə hərəkətli faza ilə işarəyə qədər durulaşdırılır. Hazırlanmış məhlulun saxlanma müddəti soyuducuda 2-6 dərəcə temperaturda - 7 gündür.

Qeyd - Lazım gələrsə, məsələn, nümunəyə oxratoksin A əlavəsi əlavə etmək üçün (bax 8.2), oxşar şəkildə digər qatılıqda oxratoksin A məhlullarının hazırlanmasına icazə verilir. Dərəcələnməmiş məhlullarında oxratoksin A-nın kütlə qatılığının faktiki qiyməti cədvəl 1-ə uyğun olaraq əsas məhlulun həcmi (2) düsturla hesablanır. İstifadədən əvvəl məhlullar otaq temperaturunda saxlanılır.

7.4 Xromatoqrafın hazırlanması

Xromatoqrafın ölçməyə hazırlanması istismar təlimatına uyğun olaraq həyata keçirilir İşçi dalğa uzunluğunun heyacanlanması və flurensensiyanın qeydiyyatı təyin edilir(bax 6.1). Mobil fazanın axın sürəti həcmi və nümunənin miqdarı həcmi xromatoqrafın və sütun istehsalçısının göstərişlərini rəhbər tutaraq sütun ölçülərindən asılı olaraq təyin edilir.Məsələn,6.3-də göstərilən xromatoqrafik sütun üçün tövsiyə olunan həcm sürəti 200 mm³/dəq və petli kranının həcmi 10 ilə 20 mm³ arasındadır.Termostat sütunlarının mövcudluğunda temperatur təyin edilir (25±1)

7.5 Xromatoqrafın dərəcələnməsi

Dərəcələnmə xarakteristikasının xəttlik diapazonu 5 ilə 100 nq/sm³ arasında təşkil edir. 7.3.3-üzrə oxratoksin A dərəcəli məhlullarından nümunə kimi xromatoqrafın dərəcələnməsində istifadə olunur. Hər bir dərəcəli məhlulun iki xromatoqramı qeydə alınır və xromatoqraf üçün proqram təminatından istifadə edərək dərəcələnmə xarakteristikasının parametrləri və oxrotoksin A-nın saxlanma müddəti təyin edilməklə xromatoqraf dərəcələnilir.Dərəcəli məhlulların hazırlanması mərhələsinə uyğun olaraq hər bir dərəcələnmə nöqtəsindəki oxratoksin A kütlə qatılığınının korrelyasiya əmsalını və kənarlaşmasını hesablayın (bax 7.3.3).

Dərəcələnməni aşağıdakı hallarda məqbul sayırlar.

-korrelyasiya əmsalı 0,998 az olduqda

- oxratoksin A-nın hesablanmış kütlə qatılığının dəyərinin faktiki dəyərdən nisbi sapması - ±10%
-dən çox olmadıqda

7.6 Dərəcələnmə xarakteristikasının sabitliyinə nəzarət

Dərəcələnmə xarakteristikasının sabitliyinə nəzarəti işə başlamazdan əvvəl gündəlik aparırlar. Nəzarət məhlulu kimi, 7.3.3-də göstəriləni kimi hazırlanmış mobil fazada oxrotoksin A məhlulundan istifadə edilir. Nəzarət məhlulunda oxrotoksin A-nın kütləvi qatılığı sınaq nümunələrindəki oxrotoksin A-nın təklif olunan tərkibinə əsasən seçilir, 20 ng/sm³ kütlə qatılığı olan oxrotoksin A məhlulundan istifadə etmək tövsiyə olunur. Nəzarət məhlulunun ən azı iki xromatoqramı qeydə alınır və oxrotoksin A-nın pik nöqtəsi identifikasiya pəncərəsinin eni 5% olan saxlama müddəti ilə müəyyən edilir, lazım olduqda pik saxlama müddətinə proqram təminatı ilə düzəliş edilir və dərəcələnmə xarakteristikası, hər bir giriş üçün oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı hesablanır. Oxratoksin A-nın saxlanma müddətlərinin və kütləvi qatılıqlarının təkrarlanması düsturlardan istifadə etməklə yoxlanılır.

$$\frac{t_1 - t_2}{t} \leq 0,05$$

Harada $t_1 t_2$ - birinci və ikinci xromatoqramlarda okratoksin A pikinin saxlanma müddətləri müvafiq olaraq

T $t_1 t_2$ -nin orta ədədi dəq.

$$\frac{C_{K1} - C_{K2}}{C_K} \leq 0,07$$

Harada $C_{K1} C_{K2}$ - müvafiq olaraq birinci və ikinci xromatoqramlara görə nəzarət məhlulunda okratoksin A-nın kütləvi qatılığı nq/sm³

$C_K - C_{K1} C_{K2}$ -nin orta ədədi nq/sm³

Əgər şərt olarsa, dərəcələmə asılılığı sabit sayılır

$$\frac{C_K - C}{C} \leq 0,12$$

Harada C - nəzarət məhlulunda okratoksin A-nın kütləvi qatılığının faktiki dəyəri

Əgər şərt yerinə yetirilməzsə, nəzarət proseduru təkrarlanır. Təkrar nəzarətin nəticələri yekun sayılır və 7.5-ə görə xromatoqrafın dərəcələnməsi yenidən aparılır.

7.7 Boş nəzarət

Test nümunələrini sınaqdan keçirməzdən əvvəl boş sınaq aparılır. 7.2.2-yə uyğun olaraq 15 sm³ metilənxlorid və sirkə turşusu qarışığı buxarlanma kolbasına qoyulur və kolbanı 40-45 dərəcə temperaturda su hamamına qoymaqla vakuumda quruyana qədər buxarlanır. Quru qalıq 7.2.1-ə uyğun olaraq 0,5 sm³ hərəkətli fazada həll edilir, ən azı 5 dəqiqə saxlanılır və nəticədə alınan konsentrat 8.3-ə uyğun olaraq xromatoqrafik analiz edilir. Xromatoqrammada saxlama müddətində okratoksin A zirvəsinə yaxın olan zirvələr varsa, boş nümunənin çirklənməsinin səbəblərini aradan qaldırın.

Qeyd- Qeyri-qənaətbəxş boş nəzarət nəticəsinin ən ümumi səbəbi, okratoksin A-ya yaxın saxlama müddəti olan çirklərlə çirklənə bilən mitelen xloridinin qeyri-kafi təmizliyidir. Belə mitelen xlorid dəyişdirilməli və hərtərəfli distillə edilməlidir, qaynama nöqtəsində 39-40 dərəcə olan orta fraksiya toplanmalıdır.

8 Sınağın aparılması

8.1 Oxratoksin A nümunəsinin ekstraksiyası

Ayrılcı huniyə pipetlə 5 sm³ nümunə qoyulur, 7.2.3-ə uyğun olaraq 5 sm³ xlorid natri məhlulu əlavə edilir, 7.2.2-yə uyğun olaraq 5sm³ metilen xlorid və sirkə turşusu qarışığı tökülür və 1 dəqiqə müddətində çalxalanır. Faza ayrıldıqdan sonra aşağı üzvi təbəqə əvvəlcədən turşulaşmış metilen xloridlə isladılmış qızımızı lent filterdən süzülür və buxarlanmaq üçün bir qaba qoyulur.

- sabit bir emulsiya əmələ gəldikdə, qarışığı 5000 rpm sürətlə 2 dəqiqə müddətində sentrifüq etmək tövsiyə olunur

7.2.2-yə uyğun olaraq 5 sm³ sirkə turşusu və metilen xlorid qarışığı ilə yuxarı təbəqədən oxratoksin A-nın ekstraksiyasının çıxarılması təkrarlanır. Alınan ekstrakt buxarlandırılmaq üçün eyni kolbaya süzülür. Filtrat 5 ilə 10 sm³ həcmində olan turşudulmuş metilen xloridlə yuyulur. Kolba su hamamına 40 ilə 45 dərəcədə yerləşdirilir, vakuum altında quru çöküntü əmələ gələne kimi ekstarkt buxarlandırılır. Quru çöküntü 0,5 sm³ mobil fazada həlledilir, beləliklə konsentrat nümunəsi əldə edilir.

Qeyd-üsulün mənimsənilməsi mərhələsində, ekstraktın partiyasını dəyişdirərkən həmçinin nəticələrin etibarlığına şübhə olduqda, nümunəsində ki oxratoksin A-nın ötürmə əmsali əlavə A-ya uyğun olaraq tapılır və alınan dəyərin məqbulluğu yoxlanılır.

8.2 Nümunənin skrininqinin aparılması

8.1-ə uyğun olaraq alınan şərab nümunəsi konsentratı ən azı 5 dəqiqə saxlanılır və sonra 8.3 -ə uyğun olaraq xromatoqrafik analiz edilir. Xromatoqrammada oxratoksin A zirvəsi kimi müəyyən edilmiş pik yoxdursa, belə nəticəyə gəlinir ki, nümunədə ölçmə diapazonunun aşağı həddi (0,001 mq/dm³) səviyyəsində oxratoksin A yoxdur və oxratoksin A-nın əlavəsi hazırlanmır. Nümunənin xromatoqramında xromatoqraf proqramı ilə oxratoksin A zirvəsi (CM 8.3) kimi müəyyən edilən pik aşkar edilərsə, analiz edilən nümunə mobil fazada oxratoksin A məhlulu şəklində əlavə edilir (bax 7.3.2). Oxratoksin A məhlulunun əlavə edilməsinin tövsiyə olunan həcmi aşağıda k₁ düsturla hesablanır. (V_{dr} sm³)

$$V_{d,r} = \frac{q \cdot C_x \cdot V_K}{C_{CT}}$$

Harada q-dəyəri 0,5 ilə 2,0 aralığında seçilən əmsal

C_x - nümunə konsentratında oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı (bax 8.3) nq/sm³

V_K - nümunə konsentratının həcmi sm³(0.5 sm³)

C_{CT} - qatqı əlavə etmək üçün istifadə edilən məhlulda oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı nq/sm³

Əlavə edilmiş əlavənin həcmi nümunənin həcmindən 5%-dən çox olmamalıdır. (V_{dr} sm³). Bu tələb düstur (6) ilə hesablanmış dəyərlərə uyğun gəlmirsə, oxratoksin A əlavə etmək üçün fərqli bir kütlə qatılığı dəyəri olan bir məhlul istifadə olunur. Əlavəli nümunəni 8.1-ə uyğun olaraq analiz edirlər.

8.3 Xromatoqrafik ölçmələrin aparılması

Sınaq nümunəsi konsentratının (bax 8.1) və əlavə ilə nümunənin (bax 8.2) ən azı iki xromatoqramını, xromatoqramın kalibrləndiyi eyni şəraitdə qeyd edilir. Oxratoksin A-nın identifikasiyası nümunə ekstraktında oxratoksin A-nın saxlanma müddətini kalibrləmə xarakteristikasının sabitliyinə nəzarət etməklə, eyniləşdirmə pəncərəsinin enini 5% təyin etməklə əldə edilən saxlama müddəti ilə uyğunlaşdırmaqla həyata keçirilir. Xromatoqramın misalı şəkil B1-də göstərilib. (əlavə B1)

Qeyd-Oxratoksin A-nın identifikasiyası nümunə ekstraktında oxratoksin A-nın saxlanma müddətini kalibrləmə xarakteristikasının sabitliyinə nəzarət etməklə, eyniləşdirmə pəncərəsinin enini 5% təyin etməklə əldə edilən saxlama müddəti ilə uyğunlaşdırmaqla həyata keçirilir. İdentifikasiyanın etibarlılığı oxratoksin A-nın təklif olunan zirvəsinin hündürlüyünün artması ilə qiymətləndirilə bilər. Əlavə edilmiş oxratoksin A məhlulunun miqdarı nümunədə oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı ilkin dəyərlə müqayisədə 50-150% artmasına əsaslanaraq müəyyən edilir.

Nümunə konsentratının xromatoqramında oxratoksin A zirvəsi kimi müəyyən edilmiş pik varsa, 7.5-ə uyğun olaraq kalibrləmə xarakteristikaları toplusundan istifadə edərək qeydə alınmış hər bir xromatoqram üçün nümunə konsentratındakı oxratoksin A-nın dəyərlər bərabərsizliyədən istifadə edərək (4)kütləvi qatılığı hesablayın və əldə edilənin məqbulluğunu yoxlayın. Əgər (4) şərt yerinə yetirilsə, o zaman sınaq nümunəsinin konsentratında oxratoksin A-nın kütləvi qatılığının ölçülməsinin nəticəsi kimi alınan konsentrasiyaların arifmetik ortası hesab olunur. Əgər düsturun (4) şərti yerinə yetirilmirsə, onda qeyri-sabitliyin səbəbləri tapılır və aradan qaldırılır, bundan sonra nümunə konsentratının yeridilməsi təkrarlanır. Nümunə konsentratını oxratoksin A əlavə etməklə təhlil edərkən (bax 8.2.) iki xromatoqrama da qeydə alınır, oxratoksin A-nın pik nöqtəsi müəyyən edilir və konsentratda oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı hər bir xromatoqram üçün hesablanır , alınan dəyərlər yoxlanılır və əlavə edilmiş nümunənin konsentratında oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı alınmış dəyərlərin arifmetik ortası kimi hesablanır (C_{xd} nq/sm³). Nümunə konsentratında oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı 100 nq/sm³-dən çox olarsa, şərab nümunəsi 6.11-ə uyğun olaraq su ilə seyreltilir və seyreltilmiş nümunə 8.1-ə uyğun olaraq yenidən analiz edilir. Seyreltmə əmsalı Q aşağıda ki düsturla hesablanır.

$$Q = \frac{V_p}{V_a}$$

Harada V_p seyreltilmiş nümunənin həcmi sm³

V_a seyreltilmək üçün götürülən sınaq nümunəsi alikvotun həcmi sm³

9 Sınaq nəticələrinin emalı

Şərab nümunəsində oxratoksin A-nın kütləvi qatılığı (X mg/dm) bu düsturla hesablanır.

$$X = \frac{C_{cr} \cdot V_4}{V_{pr}} \cdot \frac{C_x}{C_{x+d} - C_x} \cdot Q \cdot 10^3$$

Harada C_{cr} - əlavə olaraq istifadə olunan oxratoksin A məhlulunun kütləvi qatılığı (bax 8.2)nq/sm³

V_d -nümunəyə əlavə edilən oxrotoksin A məhlulunun həcmi (bax 8.2)sm³

V_{pr} -8.1-ə uyğun olaraq sınaq üçün götürülən nümunənin həcmi (5 sm³)

C_x - nümunə qatılığında olan oxrotoksin A-nın kütləvi qatılığı (bax 8.3)nq/sm³

C_{x+d} -əlavə ilə nümunə qatılığında okratoksin A-nın kütləvi qatılığı (bax 8.3) nq/sm³

Q-şərab nümunəsinin seyreltmə əmsalı (bax 8.3) Əgər nümunə seyreltilməyibsə, onda Q = 1

10³-kütlə və həcm vahidlərinin ölçülərinin razılaşma əmsalı

10 Metroloji xarakteristikalar

Üsul cədvəl 2-də verilən dəyərləri aşmayan metroloji xarakteristikalara malik ölçü nəticələrinin əldə edilməsini təmin edir.

Cədvəl 2

Ölçü diapazonu mq/dm ³	Təkrarlanma həddi (P=0,95-də təkrarlanma şəraitində alınan iki ölçmə nəticəsi arasında icazə verilən uyğunsuzluğun nisbi dəyəri) r_{otn} %	Kritik fərq (P=0,95-də təkrarlanma şəraitində alınan iki ölçmə nəticəsi arasında icazə verilən uyğunsuzluğun nisbi dəyəri) $CD_{0,95}$ mq/dm ³	Dəqiqlik indeksi (etimad səviyyəsində nisbi xəta hədləri P=0,95) $\pm \delta$ %
0,001-dən 0,005-ə qədər	28	42	30
sv 0,005 0,1	18	31	22

Nisbi səhv limitlərinin müəyyən edilmiş ədədi dəyərləri əhatə əmsalı k=2 olan nisbi genişlənmiş qeyri-müəyyənliyin U ədədi dəyərlərinə uyğundur.

Təkrarlanabilirlik şəraitində eyni laboratoriyada alınan iki ölçmə nəticəsi arasındakı uyğunsuzluq şərtə uyğun olmalıdır ($X_1 X_2$ mq/dm³)

$$100 \frac{X_1 - X_2}{X} \leq r_{otn}$$

Harada X- $X_1 X_2$ -nin orta ədədədi

r-təkrarlama həddi (cədvəl 2) %

Şərt (9) yerinə yetirildikdə ölçmə nəticəsi kimi alınan ölçmə nəticələrinin arifmetik ortası alınır.($X_1 X_2$,mq/dm³). Eyni nümunələr uyğun iki laboratoriyada alınan iki ölçmə nəticəsi arasındakı uyğunsuzluq aşağıda ki şərtə cavab verməlidir.

$$100 \frac{X_{1lab} - X_{2lab}}{X_{lab}} \leq CD_{095}$$

Harada $X_{lab} - X_{1lab} X_{2lab}$ -n orta ədədi

CD_{095} - kritik fərq (cədvəl 2) %

11 Ölçü nəticələrinin keyfiyyətinə nəzarət

Laboratoriyada ölçmə nəticələrinin keyfiyyət göstəricilərinə nəzarət GOCT ISO 5725-6-2003 (bölmə 6) tələbləri nəzərə alınmaqla ölçmə nəticələrinin sabitliyinə nəzarəti təmin edir.

12 Sınaq nəticələrinin rəsmiləşdirilməsi

Test nəticələri ISO / IEC 17025 tələblərinə uyğun tərtib edilmiş sınaq hesabatında qeyd olunur, test hesabatında bu standartta istinad olmalıdır. Okratoksin A tərkibinin ölçülməsinin nəticələri (analitik prosedurun bu standartın tələblərinə uyğunluğu laboratoriya tərəfindən təsdiqlənmiş) bu formada təqdim olunur.

$$X \pm \Delta \text{ və ya } X \pm U$$

Harada X- 10-cu hissəyə uyğun olaraq alınan ölçü nəticəsidir mq/dm³

Δ - oxrotoksin A (P=095) mq/dm miqdarının ölçülməsində mütləq xətanın hədləri aşağıda k1 düsturla hesablanır

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot X$$

U- aşağıdakı düsturla hesablanan k=2 mq/dm³ əhatə əmsalında genişlənmiş qeyri-müəyyənlik.

$$U = 0,01 \cdot U_{om}$$

$\delta(U_{om})$ dəyəri cədvəl 2-də verilmişdir.

Mütləq səhv (qeyri-müəyyənlik) hədlərinin ədədi dəyərləri son ölçmə nəticəsinin ədədi dəyərinin ən kiçik rəqəmi ədədi rəqəmin ən kiçik rəqəmi ilə üst-üstə düşməklə, iki əhəmiyyətli rəqəmdən çox olmayan bir ədəd kimi ifadə edilir (qeyri-müəyyənlik) sərhədlərinin qiyməti.

Əlavə A (tövsiyyə olunan) Oxratoksin A-nın ötürülmə əmsalının təyini.

Oxrotoksin A-nın ötürülmə əmsalını təyin etmək üçün 7.2.2-yə uyğun olaraq ayırıcı qıfa 5 sm³ distillə suyu, 5 sm³ natrium xlorid məhlulu qoyulub nəzarət nümunəsi hazırlanır. 8.1-ə uyğun olaraq oxratoksin A-nın ekstraksiyası aparılır, 8.2-yə uyğun olaraq nəzarət nümunəsi konsentratı hazırlanır və 8.3-ə uyğun olaraq onun xromatoqrafik təhlilini aparılır və 7.5-ə uyğun olaraq kalibrəmə xarakteristikasından istifadə edərək, nəzarət nümunəsi konsentratında oxratoksin A-nın kütlə qatılığı hesablanır. Sonra oxratoksin A-nın ötürülmə əmsalı aşağıdakı düsturla hesablanır.

$$\eta = \frac{V_1 \cdot C_X}{C_X \cdot V_K}$$

harada V_1 -nəzarət nümunəsin konsentratının həcmi sm³ (0.5 sm³)

C_x - nəzarət nümunəsi konsentratındakı okratoksin A-nın kütlə qatılığının ölçülmüş qiyməti

C_K - 7.3.2-yə uyğun olaraq məhlulda olan oxratoksin A-nın kütlə qatılığının qiyməti nq /sm³

V_K - nəzarət nümunəsinin hazırlanması üçün götürülən oxratoksin A-nın həcmi 7.32-yə uyğun məhlul.

Oxratoksin A-nın ötürülmə əmsalı ən azı üç təkrarda müəyyən edilir. Əldə olunan qiymətlər aşağıdakı tələblərə cavab verməlidir

- alınan nəticələrdən hər birinin qiyməti 0.8-dən az olmayaraq.

- alınan qiymətlər diapazonunun nisbi qiyməti aşağıda ki şərtə uyğundur

$$\frac{\eta_{\max} - \eta_{\min}}{\eta} \leq 0.10$$

Harada η_{\max} və η_{\min} - oxratoksin A-nın ötürülmə əmsalının əldə edilən qiymətlərindən ən böyüyü və ən kiçiki

η - oxratoksin A-nın ötürülmə əmsalının əldə edilən orta qiyməti

Əgər iki şərtə ödənilirsə ,o zaman 8.1-ə uyğun olaraq keçirilən əməliyyat məqsədə uyğun hesab edilir.Əks halda oxratoksin A-nın itirilməsinin səbəbi tapılır və ötürülmə əmsalının təyin edilməsi təkrar edilir.

Əlavə B (köməkçi)

Xromatoqramın misalı

Şəkil B 1-də kəməşirin qatı qırmızı şərabın xromatoqram nümunəsi göstərilir.(nümunədə oxratoksin A –nın kütlə qatılığı 0,0010 mq/dm³).7,7 ng/sm³ qatılıqda Oxratoksin A-nın zirvəsi oxratoksin A-nın kütlə qatılığına uyğundur.(şəkilə OTA kimi təyin edilmişdir)

UDC 543.544.5.068.7:663.2:006.354 MKS67.160.10

Açar sözlər:şərab,şərab materialları,sınaq üsulları,yüksək effektiv maye xromatoqrafiya ,oxratoksin A, oxratoksin A-nın ekstraksiyası, oxratoksin A-nın kütlə qatılığının təyin edilməsi, ekstraktın qatılaşdırılması,nümunənin skrininqi, fluometrik aşkarlama.