МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34480— 2018

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение амфениколов и пенициллинов методом тандемной жидкостной масс-спектрометрии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 октября 2018 г. № 113-П)

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
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 16 ноября 2018 г. № 1023-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34480—2018 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 октября 2019 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© Стандартинформ, оформление, 2018

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

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

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение амфениколов и пенициллинов методом тандемной жидкостной масс-спектрометрии

Meat and meat products. Determination of amphenicols and penicillins by tandem liquid mass spectrometry method

Дата введения — 2019—10—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты убоя и мясную продукцию, а также на мясо птицы, субпродукты и продукты его переработки, и устанавливает метод определения содержания амфениколов[1)] (хлорамфеникол, флорфеникол, флорфеникол амин, тиамфеникол) и пенициллинов[1)] (бензилпенициллин, ампициллин, диклоксациллин, оксациллин, феноксиметилпенициллин, клоксациллин, амоксициллин, нафциллин) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС).

Диапазон измерений для хлорамфеникола — от 0,2 до 1000 мкг/кг, для остальных амфениколов и пенициллинов — от 1,0 до 1000,0 мкг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

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

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты[2)]

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

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

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

[1)] Настоящий стандарт не исключает возможность определения амфениколов и пенициллинов по ГОСТ Р 54904—2012 «Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором».

[2)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

ГОСТ ISO 3696—2013 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля[1)]

ГОСТ 4025—95 Мясорубки бытовые. Технические условия

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

ГОСТ ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике[3)]

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия[4)]

ГОСТ 7269—2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 9792—73 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 20469—95 Электромясорубки бытовые. Технические условия

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

ГОСТ 26272—98 Часы электронно-механические кварцевые наручные и карманные. Общие технические условия

ГОСТ 26678—85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

ГОСТ 28165—89 Приборы и аппараты лабораторные из стекла. Аквадистилляторы. Испарители. Установки ректификационные. Общие технические требования

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

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

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

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **супернатант:** Жидкость, располагающаяся над твердым слоем (осадком, седиментом) после центрифугирования пробы.

3.2 **элюент:** Подвижная фаза (растворитель или смесь растворителей).

3.3 **аналит:** Вещество, определяемое в пробе объекта аналитического контроля.

4 Сущность метода

Метод основан на извлечении амфениколов и пенициллинов ацетонитрилом, очистке и концентрировании полученного экстракта с помощью твердофазной экстракции (ТФЭ) и последующем количественном определении методом ВЭЖХ-МС/МС.

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

[2)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений».

[3)] 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».

[4)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144—2018 «Вода дистиллированная. Технические условия».

5 Требования безопасности

5.1 При подготовке и проведении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

5.2 Помещение, в котором проводят измерения, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Работу необходимо проводить, соблюдая правила личной гигиены и противопожарной безопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.004, и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

5.3 При работе с электроприборами необходимо соблюдать требования безопасности по ГОСТ 12.1.019.

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы

Хроматограф жидкостный высокоэффективный, укомплектованный:

- трехквадрупольным масс-спектрометрическим детектором с источником ионизации распылением в электрическом поле (*ESI*) с диапазоном измерений массы от 2 до 2000 а. е. м.;
- градиентным насосом;
- хроматографической колонкой для ВЭЖХ длиной 50—150 мм и диаметром 2,1—4,6 мм с обращенной фазой С18, размером частиц 1,8—5,0 мкм;
- блоком термостатирования колонок с поддержанием температуры 40 °С с точностью ±0,1 °С;
- записывающим устройством с компьютерным управлением и автоматической программой обработки хроматографических данных в соответствии с комплектацией хроматографа.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 специального или высокого класса точности или весы лабораторные по нормативным документам государства, принявшего стандарт, с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ±1,0 мг.

Баня ультразвуковая лабораторная с регулятором времени.

Испаритель роторный по ГОСТ 28165.

Центрифуга лабораторная с центробежным ускорением 4000 g.

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025 или электромясорубка бытовая по ГОСТ 20469.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Часы электронно-механические по ГОСТ 26272.

Банки стеклянные вместимостью 250—500 $см^3$ с крышкой.

Пипетки градуированные 1–2–1–0,5, 1–2–1–1, 1–2–1–2, 1–2–1–5, 1–2–1–10 по ГОСТ 29227 с относительной погрешностью дозирования не более ±5 % или дозаторы автоматические с переменным объемом дозирования и относительной погрешностью дозирования не более ±1 %.

Колба мерная 2–100–2, 2–500–2 по ГОСТ 1770.

Колба круглодонная К-1–50–29/32 ТХС по ГОСТ 25336.

Пробирки центрифужные из полипропилена вместимостью 15 $см^3$.

Флаконы — виалы хроматографические из темного стекла вместимостью 2,0 $см^3$.

Фильтр мембранный из политетрафторэтилена с диаметром пор 0,45 мкм.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода для лабораторного анализа по ГОСТ ISO 3696 первой степени очистки.

Кислота муравьиная, ос. ч.

Метанол, ос. ч.

Ацетонитрил, ос. ч.

Картриджи ТФЭ на основе обращенно-фазного сорбента С18 с размером диаметра частиц не более 60 мкм.

Стандартные образцы амфениколов (хлорамфеникол, флорфеникол, флорфеникол амин, тиамфеникол) и пенициллинов (бензилпенициллин, ампициллин, диклоксациллин, оксациллин, феноксиметилпенициллин, клоксациллин, амоксициллин, нафциллин) с содержанием основного вещества не менее 95,0 %.

Внутренний стандарт амфениколов — хлорамфеникол-Д5 с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

Внутренний стандарт пенициллинов — бензилпенициллин-Д7 с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и вспомогательного оборудования с техническими характеристиками не хуже, а также материалов и реактивов по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте.

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб проводят по ГОСТ 7269, ГОСТ 31467, ГОСТ 9792.

7.2 Пробу измельчают, дважды пропуская через мясорубку с диаметром отверстий решетки 2—4 мм, и тщательно перемешивают.

7.3 Подготовленную пробу помещают в стеклянную банку вместимостью 250—500 $см^3$, закрывают крышкой и хранят при температуре (4 ± 2) °С не более 2 сут.

Допускается хранить подготовленную пробу в замороженном состоянии при температуре не выше минус 18 °С не более 30 сут.

8 Подготовка к измерению

8.1 Приготовление растворов

8.1.1 Приготовление растворов внутренних стандартов анализируемых веществ

Для приготовления растворов внутреннего стандарта хлорамфеникола-Д5 и бензилпенициллина-Д7 взвешивают индивидуальный стандартный образец массой, эквивалентной 10,0 мг определяемого компонента (хлорамфеникол-Д5 или бензилпенициллин-Д7), переносят в мерные колбы вместимостью по 100 $см^3$. Для приготовления раствора хлорамфеникола-Д5 доводят объем мерной колбы до метки метанолом. Для приготовления раствора бензилпенициллина-Д7 доводят объем мерной колбы до метки деионизованной водой. По 1,0 $см^3$ раствора хлорамфеникола-Д5 и бензилпенициллина-Д7 переносят в мерные колбы вместимостью по 100 $см^3$ и доводят объем до метки деионизованной водой. Расчетная концентрация растворов составляет 1000 $нг/см^3$.

Примечание — При расчете концентрации градуировочных растворов учитывают содержание основного вещества в реактиве.

Срок хранения растворов при температуре минус 20 °С — не более 9 мес.

8.1.2 Приготовление градуировочных растворов

Для определения амфениколов и пенициллинов готовят градуировочные растворы следующих массовых концентраций: 1000,0 $нг/см^3$ (раствор 1), 500,0 $нг/см^3$ (раствор 2), 100,0 $нг/см^3$ (раствор 3), 10,0 $нг/см^3$ (раствор 4), 1,0 $нг/см^3$ (раствор 5), 0,2 $нг/см^3$ (раствор 6 — для хлорамфеникола).

Для приготовления градуировочных растворов сначала готовят основной раствор. Для этого взвешивают индивидуальный стандартный образец массой, эквивалентной 10,0 мг определяемого компонента (амфениколов и пенициллинов), переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем до метки метанолом (для амфениколов) или деионизованной водой (для пенициллинов).

Для приготовления раствора 1 в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ переносят 1,0 $см^3$ основного раствора и доводят объем до метки деионизованной водой.

Примечание — При расчете концентрации градуировочных растворов учитывают содержание основного вещества в реактиве.

Для приготовления раствора 2 в хроматографическую виалу переносят 0,5 $см^3$ раствора 1 и 0,5 $см^3$ деионизованной воды.

Для приготовления раствора 3 в хроматографическую виалу переносят 0,1 $см^3$ раствора 1 и 0,9 $см^3$ деионизованной воды.

Для приготовления раствора 4 в хроматографическую виалу переносят 0,1 $см^3$ раствора 3 и 0,9 $см^3$ деионизованной воды.

Для приготовления раствора 5 в хроматографическую виалу переносят 0,1 $см^3$ раствора 4 и 0,9 $см^3$ деионизованной воды.

Для приготовления раствора 6 в хроматографическую виалу переносят 0,2 см^3 раствора 5 и 0,8 см^3 деионизованной воды.

Срок хранения растворов при температуре минус 20 °С — не более 9 мес.

Примечание — При расчете концентрации градуировочных растворов учитывают содержание основного вещества в реактиве.

Допускается приготовление градуировочных растворов иных концентраций в заданном диапазоне измерений метода.

8.2 Приготовление подвижной фазы хроматографической системы

Для проведения хроматографических измерений используют двухкомпонентную подвижную фазу:

- элюент А: 0,1 %-ный раствор муравьиной кислоты в деионизованной воде.

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 приливают 450 см^3 деионизованной воды, добавляют 0,5 см^3 муравьиной кислоты, доводят объем до метки деионизованной водой и перемешивают;

- элюент В: 0,1 %-ный раствор муравьиной кислоты в смеси ацетонитрила с метанолом (1:1).

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 приливают 250 см^3 ацетонитрила и 250 см^3 метанола, а затем добавляют 0,5 см^3 муравьиной кислоты и перемешивают.

Перед проведением измерений элюенты дегазируют на ультразвуковой бане.

Растворы хранят в колбах с притертыми пробками в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С не более 1 мес.

8.3 Приготовление пробы

8.3.1 Экстракция амфениколов и пенициллинов

Пробу массой 2 г взвешивают с записью результата до второго десятичного знака, помещают в центрифужную пробирку вместимостью 15 см^3, добавляют 10 см^3 ацетонитрила и вносят 0,05 см^3 раствора внутреннего стандарта (см. 8.1.1) хлорамфеникола-Д5 — при определении амфениколов и бензилпенициллина-Д7 — при определении пенициллинов, тщательно перемешивают. Экстракцию проводят на ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 15 мин. После этого пробу центрифугируют 5 мин с центробежным ускорением 4000 g. Полученный супернатант переносят в круглодонную колбу и упаривают на роторном испарителе досуха при температуре не выше 40 °С. К полученному остатку приливают 2 см^3 деионизованной воды, перемешивают и используют для ТФЭ.

Примечание — Допускается упаривание в токе азота.

8.3.2 Очистка пробы методом ТФЭ

Картриджи ТФЭ предварительно активируют, пропуская 3 см^3 ацетонитрила, затем 3 см^3 деионизованной воды. Анализируемый раствор наносят на картридж со скоростью 1 см^3/мин. Картридж промывают, пропуская 2 см^3 деионизованной воды, отбрасывая смывы. Аналиты элюируют 5 см^3 ацетонитрила со скоростью 1 см^3/мин и переносят в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. К сухому остатку приливают 2 см^3 деионизованной воды. Ставят на 5 мин на ультразвуковую баню до полного растворения остатка. Раствор пропускают через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм в хроматографическую виалу вместимостью 2 см^3 для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

9 Проведение измерений

9.1 Условия хроматографических измерений

Условия проведения измерений методом ВЭЖХ-МС/МС подбирают в зависимости от вида применяемого жидкостного хроматографа, масс-спектрометрического детектора и хроматографической колонки.

В качестве примера могут быть приведены следующие условия определения амфениколов и пенициллинов, выполненные на системе ВЭЖХ-МС/МС с хроматографической колонкой С18, 4,6 × 50 мм, 1,8 мкм.

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования (двухкомпонентная подвижная фаза):

объем вводимой пробы — 0,02 см^3;

скорость потока подвижной фазы — 0,4 $см^3$/мин;
температура термостата колонки — 40 °С.
Параметры и условия ВЭЖХ представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Параметры и условия ВЭЖХ

Время, мин	Соотношение компонентов подвижной фазы	
	А, %	В, %
0	98	2
1	98	2
5	60	40
6	20	80
9	10	90
9,5	98	2
14	98	2

9.2 Настройка масс-спектрометрического детектора

Для анализа подобраны следующие параметры масс-спектрометрического детектирования:
температура источника — 100 °С;
температура газа десольвации — 320 °С;
скорость потока газа десольвации — 8 $дм^3$/мин;
давление иглы распылителя — 30 *psi* (206,85 кПа).
Условия регистрации аналитических сигналов в режиме *MRM* приведены в таблице 2.

Таблица 2 — Параметры воздействия на ионы в режиме *MRM* и условия ионизации распылением в электрическом поле (*ESI*) с регистрацией положительных (+) и отрицательных (–) ионов

Аналит	Молекулярный ион, *m/z*	Дочерние ионы, *m/z*	Напряжение фрагментора (*Frag*), В	Энергия диссоциации (*CE*), В
Хлорамфеникол	321,0(–)	152,0 257,0	92	13 5
Хлорамфеникол	323,0 (+)	275,0 165,0	75	9 21
Хлорамфеникол-Д5	326,1 (–)	157,0	90	15
Хлорамфеникол-Д5	328,1 (+)	280,1	70	10
Флорфеникол	356,1 (–)	119,1 185,1	110	10 6
Флорфеникол амин	248,1 (+)	230,1 130,1	100	12 5
Тиамфеникол	354,1 (–)	185,1 289,9	120	20 10
Бензилпенициллин	333,0 (–)	192,0 289,0	130	20 10
Бензилпенициллин-Д7	340,0 (–)	199,0	130	18
Бензилпенициллин-Д7	342,1 (+)	183,1	110	16
Ампициллин	350,1(+)	192,1 106,1	100	14 7
Диклоксациллин	468,0(–)	424,1 327,0	90	15 5

Окончание таблицы 2

Аналит	Молекулярный ион, *m/z*	Дочерние ионы, *m/z*	Напряжение фрагментора (*Frag*), В	Энергия диссоциации (*CE*), В
Оксациллин	400,1(–)	259,0 356,1	110	12 7
Феноксиметилпенициллин	349,0(–)	208,0 305,0	110	15 5
Клоксациллин	434,1(–)	290,1 390,1	95	10 8
Амоксициллин	366,1(+)	208,0 114,1	100	5 17
Нафциллин	415,0(+)	256,0 160,0	110	15 10

Условия детектирования оптимизируют в ручном режиме. Для этого используют градуировочный раствор индивидуальных веществ концентрации 100,0 нг/см^3, приготовленный по 8.1.2. При этом соотношение сигнал/шум (*S/N*) для дочерних ионов должно быть не менее 1:10 для раствора индивидуальных веществ концентрации 1,0 нг/см^3. Напряжение на фрагменторе оптимизируют с шагом 10 В по максимальному отклику протонированного молекулярного иона.

Энергию диссоциации (*CE*) оптимизируют с шагом 5 В по максимальному отклику характерного дочернего иона.

9.3 Градуировка ВЭЖХ-МС/МС системы

9.3.1 Градуировку ВЭЖХ-МС/МС системы проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

9.3.2 Градуировочную характеристику строят при помощи матричной градуировки. Для этого проводят приготовление экстракта пробы по 8.3, не содержащей амфениколы и пенициллины. На стадии перерастворения сухого остатка (см. 8.3.2) после твердофазной экстракции в анализируемую пробу добавляют 2 см^3 смеси градуировочных растворов анализируемых соединений, приготовленных по 8.1.2. Для построения градуировочной зависимости используют растворы следующих массовых концентраций: 1000,0 нг/см^3, 100,0 нг/см^3, 10,0 нг/см^3, 1,0 нг/см^3 и 0,2 нг/см^3 (для хлорамфеникола).

При построении градуировочной характеристики для количественного определения остаточного количества содержания пенициллинов и амфениколов в инжектор хроматографа вводят по 0,02 см^3 и не менее двух раз градуировочные растворы различных уровней массовых концентраций.

Фактические массовые концентрации рассчитывают с учетом чистоты стандарта и молекулярного веса соединения в диссоциированном состоянии. Полученные хроматограммы обрабатывают с использованием компьютерной системы обработки данных хроматографа. Определяют абсолютное время удерживания амфениколов и пенициллинов. С использованием средств программного обеспечения строят градуировочную зависимость для наиболее интенсивного дочернего иона. Коэффициент линейной корреляции полученной градуировочной зависимости должен быть не менее 0,98. При невыполнении этого условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

Проведение градуировки обязательно при замене хроматографической колонки, а также при систематическом получении неудовлетворительных результатов контроля, выполняемого в соответствии с разделом 12.

9.4 Контроль аналитической системы

Контроль выполняют с использованием приготовленного по 8.1.2 градуировочного раствора с концентрацией аналитов 100 нг/см^3. За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений. Полученный результат измерений не должен отличаться от действительного значения концентрации определяемых веществ в градуировочном растворе более чем на 5 %, относительное стандартное отклонение времени удерживания аналитов — не более чем на 10 %. В случае невыполнения указанного критерия стабильности градуировочной характеристики проводят новую градуировку.

Контроль аналитической системы осуществляют при условиях, указанных в 9.1 и 9.2, перед началом проведения измерений, а также при смене хроматографической колонки, чистке блоков аналитического прибора и т. д.

9.5 Выполнение измерений

Для контроля фона прибора перед началом серии измерений в хроматограф вводят 20 мм^3 (мкл) ацетонитрила.

В виалы вместимостью 2 см^3 вносят приготовленный экстракт пробы и проводят измерения на системе ВЭЖХ-МС/МС при условиях, указанных в 9.1, 9.2.

По площадям хроматографических пиков наиболее интенсивного дочернего иона с использованием установленной градуировочной характеристики и программы обработки данных находят массовую концентрацию амфениколов и пенициллинов в анализируемой пробе.

Проводят два параллельных измерения анализируемой пробы и после каждого измерения вычисляют содержание амфениколов и пенициллинов.

Массовая концентрация амфениколов и пенициллинов в исследуемом растворе не должна превышать предельных значений градуировочных растворов. В случае превышения исследуемый раствор, содержащий амфениколы и пенициллины, с помощью механического дозатора разбавляют в рассчитанное количество раз раствором матричной калибровки, не содержащим анализируемые соединения, или раствором чистых образцов, содержащих близкое количество внутреннего стандарта, и проводят анализ разбавленных растворов.

10 Обработка результатов

10.1 В соответствии с данными, полученными при измерении градуировочных растворов, создают таблицу пиков с использованием программного обеспечения хроматографа. Расчеты содержания амфениколов и пенициллинов, а также площади пиков выполняют с помощью системы обработки данных в автоматическом режиме. Вычисление содержания амфениколов и пенициллинов проводят по наиболее интенсивному дочернему иону, для каждого соединения (см. таблицу 2).

10.2 Содержание амфениколов и пенициллинов X, мкг/кг, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C \cdot V}{m}, \quad (1)$$

где C — массовая концентрация аналита в анализируемой пробе, найденная по градуировочному графику, нг/см^3;

V — объем растворителя после ТФЭ (см. 8.3.2), см^3;

m — масса анализируемой пробы, г.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, если удовлетворяются условия повторяемости (сходимости).

11 Метрологические характеристики

11.1 Метрологические характеристики метода при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ приведены в таблице 3.

Таблица 3

Наименование определяемого аналита	Диапазон измерений, мкг/кг	Показатели точности		
		Границы относительной погрешности, ±δ, %	Предел повторяемости (сходимости), r, %	Предел воспроизводимости R, %
Хлорамфеникол	От 0,2 до 1000 включ.	40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}45X_{ср}$
Флорфеникол	От 1,0 до 1000 включ.	35	$0{,}30x_{ср}$	$0{,}40X_{ср}$
Флорфеникол амин		35	$0{,}30x_{ср}$	$0{,}40X_{ср}$
Тиамфеникол		35	$0{,}30x_{ср}$	$0{,}40X_{ср}$
Бензилпенициллин		40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}50X_{ср}$
Ампициллин		40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}50X_{ср}$
Диклоксациллин		40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}50м_{ср}$
Оксациллин		40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}50X_{ср}$
Феноксиметилпенициллин		40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}50X_{ср}$
Клоксациллин		40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}50X_{ср}$
Амоксициллин		40	$0{,}35x_{ср}$	$0{,}50X_{ср}$
Нафциллин		35	$0{,}30x_{ср}$	$0{,}40X_{ср}$

$x_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, мкг/кг;
$X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух измерений, выполненных в разных лабораториях, мкг/кг.

11.2 Расхождение между результатами двух параллельных измерений, выполненных одним оператором при измерении одной и той же пробы с использованием одних и тех же средств измерений и реактивов, не должно превышать предела повторяемости (сходимости) r, значения которого приведены в таблице 3.

$$|x_1 - x_2| \le r, \quad (2)$$

где x_1 и x_2 — результаты двух параллельных измерений, мкг/кг;
r — предел повторяемости, мкг/кг.

11.3 Расхождение между результатами двух измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R, значения которого приведены в таблице 3.

$$|X_1 - X_2| \le R, \quad (3)$$

где X_1 и X_2 — результаты двух измерений, выполненных в разных лабораториях, мкг/кг;
R — предел воспроизводимости, мкг/кг.

11.4 Границы относительной погрешности результатов измерений δ, находящиеся с доверительной вероятностью P = 0,95, при соблюдении условий настоящего стандарта не должны превышать значений, приведенных в таблице 3.

11.5 Контроль полноты извлечения внутренних стандартов амфениколов и пенициллинов выполняют в ходе каждого измерения. Степень извлечения внутренних стандартов должна быть в диапазоне от 40 % до 130 %. Если значение степени извлечения внутренних стандартов ниже или выше указанного диапазона, то проводят повторные исследования анализируемых проб. В случае повторного невыполнения указанного критерия степени извлечения строят новую матричную градуировку с использованием экстракта пробы по 8.3, не содержащей амфениколы и пенициллины.

12 Контроль точности результатов измерений

12.1 Контроль стабильности результатов измерений (повторяемости, промежуточной прецизионности и погрешности) проводят в соответствии с порядком, установленным в лаборатории, по ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 6.2).

12.2 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости), осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-2. Расхождение между результатами измерений не должно превышать предела повторяемости *r*. Значения *r* приведены в таблице 3.

12.3 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-2. Расхождение между результатами измерений, полученными двумя лабораториями, не должно превышать предела воспроизводимости *R*. Значения *R* приведены в таблице 3.

УДК 637.5.04.07:006.354 МКС 67.120.10

Ключевые слова: мясо, мясо птицы, субпродукты, мясная продукция, амфениколы, пенициллины, антибиотики, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрический детектор

БЗ 12—2018/63

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 19.11.2018. Подписано в печать 05.12.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,24.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru