МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34139— 2017

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения остаточного содержания седативных препаратов и адреноблокаторов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

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 учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 августа 2017 г. № 102-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
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 19 сентября 2017 г. № 1161-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34139—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2018 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2018 г.

*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, 2017, 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

МКС 67.050,
67.100,
67.120.10

Поправка к ГОСТ 34139—2017 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания седативных препаратов и адреноблокаторов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (Издание, декабрь 2018 г.)

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 5.1, первое перечисление	максимальной нагрузкой не более 150 г и пределами допускаемой погрешности не более ± 0,001 г;	пределами допускаемой погрешности не более ± 0,03 г;
второе перечисление	- весы высокого (II) класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,02 мг;	- весы специального (I) класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,5 мг;

(ИУС № 1 2020 г.)

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

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения остаточного содержания седативных препаратов и адреноблокаторов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Food products, food raw materials. Method for determination of the residual content of sedatives and blockers by high performance liquid chromatography — mass spectrometry

Дата введения — 2018—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты и продовольственное сырье: мясо (все виды животных), субпродукты (печень, почки), молоко, молочные продукты и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (далее — ВЭЖХ-МС/МС) для определения остаточного содержания седативных препаратов и адреноблокаторов в диапазоне измерений от 1,0 до 500,0 мкг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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*

ГОСТ 12.2.085—2002 Сосуды, работающие под давлением. Клапаны предохранительные. Требования безопасности

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

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-6—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике**

ГОСТ 5848—73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

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

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2012.

Издание официальное

ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 22300—76 Реактивы. Эфиры этиловый и бутиловый уксусной кислоты. Технические условия

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

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

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

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 Сущность метода

Метод основан на извлечении седативных препаратов и адреноблокаторов из анализируемой пробы с последующим количественным определением их методом ВЭЖХ-МС/МС в режиме мониторинга множественных реакций (ММР). Количественное определение проводят методом внутреннего стандарта.

4 Требования безопасности и условия выполнения измерений

4.1 Применяемые в работе реактивы относятся к веществам 1-го и 2-го классов опасности по ГОСТ 12.1.007, при работе с ними необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

4.2 Помещения, в которых проводят анализ и подготовку проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией.

4.3 Приготовление градуировочных растворов проводят в вытяжном шкафу.

4.4 При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила по электробезопасности по ГОСТ 12.1.019 и правила безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением по ГОСТ 12.2.085.

4.5 Применяемые при определении остаточных содержаний седативных препаратов и адреноблокаторов средства измерений должны иметь свидетельства о поверке, вспомогательное обордование — свидетельства об аттестации, оформленные в соответствии с требованиями национального законодательства в области обеспечения единства измерений, действующего на территории государства, принявшего стандарт.

4.6 К выполнению измерений методом ВЭЖХ-МС/МС допускаются лица, владеющие техникой ВЭЖХ-МС/МС и изучившие инструкции по эксплуатации применяемого оборудования.

4.7 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха ..... от 15 °С до 30 °С;
- относительная влажность воздуха ..... от 20 % до 80 %.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы

5.1 Для определения остаточного содержания седативных препаратов и адреноблокаторов применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и посуду:

- весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с максимальной нагрузкой не более 150 г и пределами допускаемой погрешности не более ± 0,001 г;
- весы высокого (II) класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,02 мг;
- масс-спектрометр, оснащенный источником ионизации с электрораспылением, квадрупольными анализаторами с диапазоном измерений от 50 до 500 атомных единиц массы (а. е. м.), массо-

вым разрешением не менее 0,7 а. е. м., с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,1 а. е. м., с режимом получения и анализа фрагментных ионов (режим МС/МС);

- систему высокоэффективной жидкостной хроматографии, оснащенную бинарным насосом со смесителем, системой фильтрования и дегазации подвижных фаз, термостатом хроматографической колонки, обеспечивающим температуру нагрева до (50 ± 1) °С;
- колонку хроматографическую заполненную обращенно-фазным сорбентом С18 с размером частиц не более 5,0 мкм, длиной 150 мм и внутренним диаметром 2,1 мм;
- компьютер с установленным программным обеспечением для управления масс-спектрометром и обработки результатов измерений;
- модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 60 °С;
- баню ультразвуковую с рабочей частотой не менее 20 Гц и объемом не менее 1 дм^3;
- встряхиватель (шейкер) вибрационный для пробирок орбитального типа движения с амплитудой встряхивания 3 мм и диапазоном скоростей от 150 до 2500 об/мин;
- генератор азота с объемной долей азота не менее 90 % и производительностью 200 дм^3/мин;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- камеру лабораторную морозильную с рабочим диапазоном температур от минус 15 °С до минус 25 °С;
- систему получения деионизированной воды высокой чистоты с удельным сопротивлением 18 МОм·см;
- холодильник бытовой с рабочим диапазоном температур от 2 °С до 8 °С;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения не менее 4000 об/мин и диапазоном температур от 4 °С до 20 °С с адаптерами для пробирок вместимостью 15 см^3;
- центрифугу лабораторную с центробежным ускорением не менее 15000 об/мин и с адаптерами для пробирок вместимостью 1,5 см^3;
- шкаф сушильный с максимальной температурой нагрева не менее 200 °С и погрешностью поддержания заданной температуры ± 5 °С;
- пробы, не содержащие седативные препараты и адреноблокаторы, подготовленные и проанализированные ранее в соответствии с требованиями разделов 7 и 8, в зависимости от типа анализируемой матрицы («чистые» пробы*);
- фильтры нейлоновые мембранные с диаметром пор 0,2 мкм;
- виалы (флаконы) для автоматического устройства ввода проб, вместимостью 2 см^3, с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- виалы (флаконы) или пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см^3 с завинчивающимися крышками;
- пробирки микроцентрифужные полипропиленовые вместимостью 1,5 см^3;
- колбы 1—25(1000)—2 по ГОСТ 1770;
- пипетки 2—2—1—2(5,10) по ГОСТ 29227;
- пипетки одноканальные переменной вместимости 20—100, 200—1000, 500—5000 мм^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования по метанолу и ацетонитрилу не более ± 1 %;
- пробирки П-2—10—14/23 ХС по ГОСТ 1770;
- цилиндры 1—25(1000)—1 по ГОСТ 1770.

5.2 При определении остаточного содержания седативных препаратов и адреноблокаторов применяют следующие реактивы:

- азот газообразный марки 60 по ГОСТ 9293, ос. ч.;
- ацетон по ГОСТ 2603;
- ацетонитрил для ВЭЖХ-МС с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %;
- кислоту муравьиную по ГОСТ 5848, ч. д. а.;
- метанол, по ГОСТ 6995, х. ч.;
- воду деионизированную для ВЭЖХ, полученную с использованием системы производства ультрачистой воды из дистиллированной воды по ГОСТ 6709;
- эфир этиловый уксусной кислоты (этилацетат) по ГОСТ 22300, ч. д. а.

---

* Срок хранения «чистых» проб при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С — не более 3 мес.

5.3 При определении содержания седативных препаратов и адреноблокаторов в качестве образцов сравнения применяют следующие соединения с массовой долей основного вещества не менее 90 %:

5.3.1 Для приготовления исходных растворов:

- азаперол;
- азаперон;
- ацепромазин;
- галоперидол;
- диазепам;
- детомидин;
- каразолол;
- ксилазин;
- медетомидин;
- меперидин;
- метопролол;
- промазин;
- пропионилпромазин;
- ромифидин;
- трифлупромазин;
- флуфеназин;
- хлорпромазин.

5.3.2 Для приготовления исходных растворов внутренних стандартов:

- азаперол-Д4;
- азаперон-Д4;
- каразолол-Д7.

5.4 Допускается применение других средств измерений и посуды, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также вспомогательного оборудования, реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

6 Подготовка к проведению измерений

6.1 Подготовка лабораторной посуды и реактивов

6.1.1 Мойку и сушку посуды проводят в отдельном помещении, оборудованном приточно-вытяжной вентиляцией. Для сушки лабораторной посуды и подготовки реактивов необходимо использовать отдельные сушильные шкафы.

6.1.2 Стеклянную посуду подвергают стандартной процедуре очистки лабораторной посуды с последующей последовательной промывкой органическими растворителями: этилацетатом (однократно), ацетоном (дважды).

6.1.3 Процедуру промывки органическими растворителями следует проводить в вытяжном шкафу. Рекомендуется на стадиях промывки использовать ультразвуковую баню. Окончательную сушку посуды проводят в сушильном шкафу, установленном в вытяжном шкафу, при температуре от 105 °С до 110 °С.

6.1.4 Каждую новую партию реактивов проверяют на отсутствие контаминации анализируемыми соединениями путем проведения холостого опыта в соответствии с процедурой анализа.

6.2 Приготовление растворов

6.2.1 Приготовление подвижной фазы А

Для приготовления подвижной фазы А в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ приливают 600 $см^3$ деионизированной воды, 5,0 $см^3$ муравьиной кислоты, перемешивают, доводят объем раствора деионизированной водой до метки на колбе и помещают в ультразвуковую баню в режиме дегазации на 5 мин.

Срок хранения раствора при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 2 мес.

6.2.2 Приготовление подвижной фазы Б

Для приготовления подвижной фазы Б в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ приливают 600 $см^3$ метанола, 5,0 $см^3$ муравьиной кислоты, перемешивают, доводят объем раствора метанолом до метки на колбе и помещают в ультразвуковую баню в режиме дегазации на 5 мин.

Срок хранения раствора при температуре от 15 °С до 25 °С — не более 1 мес.

6.3 Приготовление градуировочных растворов

6.3.1 Приготовление исходных стандартных растворов седативных препаратов и адреноблокаторов (азаперон, азаперол, промазин, детомидин, метопролол, каразолол, ксилазин, галоперидол, ацепромазин, хлорпромазин, пропионилпромазин, трифлупромазин, диазепам, медетомидин, меперидин, ромифидин и флуфеназин) (растворы C_0) и исходных растворов внутренних стандартов (каразолол-Д7, азаперон-Д4, азаперол-Д4) (растворы D_0) с массовыми концентрациями 200 мкг/см^3

6.3.1.1 Внутренние стандарты для седативных препаратов и адреноблокаторов выбирают в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 — Соответствие между аналитами и внутренними стандартами

Наименование аналита	Наименование внутреннего стандарта
Азаперол	Азаперол-Д4
Диазепам	
Азаперон	Азаперон-Д4
Ромифидин	
Ацепромазин	Каразолол-Д7
Галоперидол	
Детомидин	
Каразолол	
Ксилазин	
Медетомидин	
Метопролол	
Меперидин	
Промазин	
Пропионилпромазин	
Трифлупромазин	
Флуфеназин	
Хлорпромазин	

6.3.1.2 Для приготовления исходных стандартных растворов C_0 и D_0 рассчитывают необходимую массу *i*-го вещества, эквивалентную 5,0 мг с учетом содержания основного вещества для каждого определяемого аналита и внутреннего стандарта, по формуле

$$m_i = C \cdot V \cdot \frac{100}{P_i} \cdot \frac{M_i}{M_{\text{аналита } i}} \cdot 0{,}001, \quad (1)$$

где C — концентрация *i*-го аналита в стандартном растворе, мкг/см^3;

V — объем мерной колбы, см^3;

P_i — массовая доля основного вещества в *i*-м стандартном образце, %;

M_i — молярная масса основного вещества в *i*-м стандартном образце, г/моль;

$M_{\text{аналита } i}$ — молярная масса *i*-го аналита, г/моль.

В мерные колбы вместимостью 25 см^3 по отдельности вносят рассчитанные массы исходных веществ (взвешивание проводят с точностью до первого десятичного знака). Приливают по 15 см^3 метанола, закрывают пробками, перемешивают и после полного растворения сухого вещества доводят объем растворов метанолом до метки на колбе. Помещают в ультразвуковую баню на 5 мин в режиме перемешивания.

Срок хранения растворов при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С — не более одного года.

Перед применением растворы выдерживают при комнатной температуре в темном месте не менее 30 мин.

6.3.2 Приготовление рабочих стандартных растворов седативных препаратов и адреноблокаторов (растворы C_1—C_3) и их внутренних стандартов (растворы D_1, D_2)

Рабочие растворы C_1—C_3, D_1, D_2 готовят в мерных пробирках вместимостью 10 см^3 в соответствии с рисунком 1.



Рисунок 1 — Приготовление рабочих растворов C_1—C_3, D_1, D_2

Растворы хранят при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С. Срок хранения растворов C_1, D_1 — не более 6 мес, C_2, D_2 — не более 3 мес, C_3 — не более одной недели.

Перед применением растворы выдерживают при комнатной температуре в темном месте не менее 30 мин.

6.3.3 Приготовление матричных градуировочных растворов (растворы G_1—G_6)

Матричные градуировочные растворы G_1—G_6 готовят в виалах или полипропиленовых пробирках вместимостью 15 см^3 из «чистых» проб массой 1,0 г, в которые вносят рабочий раствор внутренних стандартов D_2 и рабочие растворы определяемых аналитов C_1, C_2, C_3 в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 — Приготовление матричных градуировочных растворов G_1—G_6

Обозначение и массовая концентрация матричного градуировочного раствора	Вносимый объем рабочего раствора, см^3			
	C_1	C_2	C_3	D_2
G_1 (500 нг/см^3)	0,25	—	—	0,05
G_2 (100 нг/см^3)	—	0,1	—	0,05
G_3 (50 нг/см^3)	—	0,05	—	0,05
G_4 (10 нг/см^3)	—	—	0,1	0,05
G_5 (5 нг/см^3)	—	—	0,05	0,05
G_6 (1 нг/см^3)	—	—	0,01	0,05

Пробирки встряхивают в шейкере в течение 1—2 мин, выдерживают в темноте при комнатной температуре в течение 10 мин и проводят дальнейшую обработку растворов согласно разделу 7.

Срок хранения растворов G_1—G_6 при температуре от 2 °С до 8 °С — не более суток.

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб

7.1.1 Отбор проб мяса, субпродуктов — по ГОСТ 7269.

7.1.2 Отбор проб молока и молочных продуктов — по ГОСТ 26809.1.

7.1.3 Пробы, отобранные по 7.1.1, при отсутствии возможности анализа в день отбора замораживают и хранят при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С до проведения анализа.

7.2 Подготовка проб мяса, субпродуктов, молока, молочных продуктов при определении седативных препаратов и адреноблокаторов

Подготовку проб молока, молочных продуктов проводят по ГОСТ 26809.1 [восстановление сухих молочных продуктов — по ГОСТ 29245 (пункт 3.4)]. Мышечную ткань предварительно очищают от грубой соединительной ткани. 100 г мяса, субпродуктов измельчают на гомогенизаторе. Далее обработку пробы проводят в соответствии с рисунком 2.

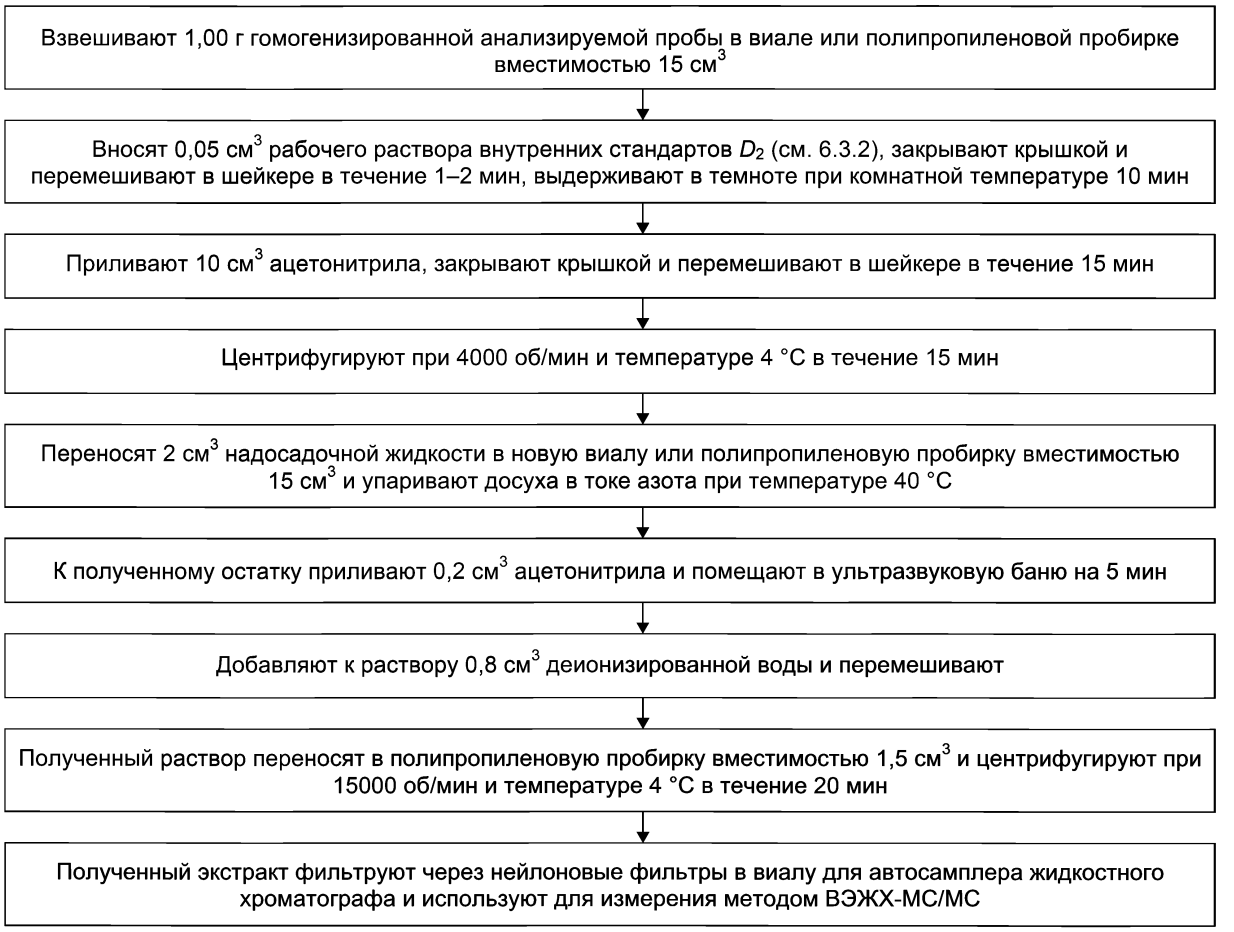

Рисунок 2 — Подготовка анализируемых проб

8 Порядок выполнения анализа

8.1 Условия хроматографического разделения

8.1.1 Масс-спектрометр и хроматограф включают в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают параметры рабочих режимов масс-спектрометрического детектирования и хроматографического разделения.

8.1.2 Например, для колонки диаметром 2,1 мм, длиной 150 мм, с обращенно-фазным сорбентом С18 с размером частиц не более 5,0 мкм, соблюдают следующие условия хроматографирования:

- температура колонки — 40 °С;
- скорость потока подвижной фазы — 0,25 см^3/мин;
- объем вводимой пробы — 20 мм^3.

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования (приготовление подвижных фаз А и Б по 6.2) в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3 — Условия градиентного элюирования при регистрации положительных ионов

Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза Б, %
0,0	95	5
1,0	95	5
20,0	5	95
20,1	95	5
30,0	95	5

8.1.3 Параметры режима ММР при измерении седативных препаратов и адреноблокаторов приведены в таблице 4.

Параметры настройки масс-спектрометрического детектора:

- напряжение на распыляющем капилляре (*IS*) 5500 В при регистрации положительных ионов;
- температура источника 500 °С;
- разрешение квадруполей Q1/Q3 — единичное;
- поток газа для фрагментации (*CAD*) — 6 кПа.

Таблица 4 — Параметры воздействия на ионы в режиме ММР с регистрацией положительных ионов

Аналит	Ион-предшественник, *m/z*	Ион-продукт, *m/z*		Время удерживания, мин	Энергия соударений, эВ		Ускоряющее напряжение на выходе из ячейки столкновений, В	
Азаперол	330,3	121,1	312,2	6,87	28	20	12	13
Пропионилпромазин	341,3	236,2	268,2	15,75	47	32	11	20
Галоперидол	376,2	165,1	123,2	13,90	31	55	11	11
Азаперон	328,3	121,1	165,2	8,01	25	27	12	11
Флуфеназин	438,2	143,2	171,2	16,85	38	34	9	12
Каразолол	299,2	116,2	222,2	11,64	27	26	10	10
Ацепромазин	327,2	86,0	254,3	14,6	23	31	14	16
Ксилазин	221,1	90,0	164,1	9,93	30	35	11	11
Трифлупромазин	353,2	58,2	280,1	16,61	68	32	7	13
Детомидин	187,3	81,0	54,2	11,66	25	51	11	8
Медетомидин	201,3	95,3	68,1	12,84	24	45	6	8
Хлорпромазин	319,2	58,0	246,1	16,15	83	30	11	17
Меперидин	248,2	103,2	220,3	11,11	50	30	8	14
Диазепам	285,0	154,2	193,1	17,77	36	46	15	15
Метопролол	268,2	116,2	191,2	10,49	25	23	18	13
Ромифидин	259,4	160,0	178,0	6,00	40	45	9	10
Промазин	284,6	180,1	212,1	11,16	52	30	10	15
Азаперол-Д4*	334,3	153,2		6,80	37		10	
Азаперон-Д4*	332,3	127,2		7,94	50		17	
Каразолол-Д7*	306,1	123,0		11,61	24		10	
* Внутренний стандарт.								

Примечание — Приведенные выше параметры хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования могут отличаться в зависимости от используемого оборудования.

8.1.4 Контроль чувствительности масс-спектрометра осуществляют введением в инжектор хроматографа 20 мм^3 градуировочного раствора G_6 (см. 6.3.3). Полученное соотношение сигнал/шум для каждого аналита должно быть не менее 10.

8.2 Построение градуировочной характеристики

Построение и расчет градуировочной характеристики проводят в каждой серии анализов с помощью программного обеспечения хромато-масс-спектрометра.

8.2.1 Проводят измерения не менее четырех матричных градуировочных растворов, приготовленных по 6.3.3, в порядке возрастания их концентраций. Каждый градуировочный раствор измеряют два раза. Определяют значения времени удерживания ион-продуктов аналитов и их внутренних стандартов.

8.2.2 Вычисление площади пика проводят для каждого ион-продукта анализируемых аналитов и их внутренних стандартов. Количественное определение седативных препаратов и адреноблокаторов проводят по одному, наиболее интенсивному ион-продукту. Для подтверждения наличия седативных препаратов и адреноблокаторов рассчитывают отношения площади пика двух ион-продуктов для каждого аналита в градуировочном растворе.

8.2.3 Градуировочную характеристику строят в координатах «отношение площади пика определяемого соединения к площади пика внутреннего стандарта этого соединения» — «отношение концентраций аналита и внутреннего стандарта». При построении градуировочной характеристики используют линейную регрессию вида $y = a + bx$, при этом коэффициент корреляции должен быть не менее 0,98. Построение градуировочной характеристики проводят при каждой серии измерений заново.

Соответствие аналитов и их внутренних стандартов указано в таблице 1.

8.2.4 Построение линейного градуировочного графика и расчет концентрации седативных препаратов и адреноблокаторов в анализируемых пробах выполняется системой обработки данных в автоматическом режиме.

8.3 ВЭЖХ-МС/МС-анализ

8.3.1 Для измерения содержания седативных препаратов и адреноблокаторов проводят ВЭЖХ-МС/МС-анализ в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации применяемого оборудования. Для каждого аналита проводят два параллельных измерения.

8.3.2 Анализ выполняют в виде серии измерений, включающей следующие образцы:

- подвижную фазу А;
- «чистую» пробу;
- градуировочные растворы (см. 6.3.3);
- экстракты анализируемых проб, приготовленных по 7.2.

8.3.3 Определяют и регистрируют на хроматограмме время удерживания пиков двух ион-продуктов каждого аналита, соответствующее времени удерживания, найденному при измерении градуировочных растворов по 8.1.3.

9 Обработка результатов измерений

9.1 В соответствии с данными, полученными при анализе градуировочных растворов, проводят количественную обработку хроматограмм с использованием программного обеспечения, получая значения массовой концентрации седативных препаратов и адреноблокаторов в двух параллельных измерениях анализируемой пробы.

9.2 Содержание i-го аналита X_i, нг/г, вычисляют по формуле*

$$X_i = \frac{C_i \cdot V_i}{m_i}, \qquad (2)$$

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

V_i — объем, до которого разбавлена проба, см^3;

m_i — масса анализируемой пробы, г.

* При оформлении результатов содержание i-го аналита в анализируемой пробе представляют в мкг/кг.

9.3 За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений анализируемой пробы, если выполняется условие приемлемости по ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.2.2).

10 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений содержания седативных препаратов и адреноблокаторов с расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений при коэффициенте охвата $k = 2$ и доверительной вероятности $P = 0,95$, указанной в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 — Показатели точности и прецизионности метода при определении содержания седативных препаратов и адреноблокаторов в пробах субпродуктов

Аналит	Диапазон измерений содержания, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i, %, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Азаперол	От 1 до 500 включ.	40	13	19	36
Азаперон	От 1 до 100 включ.	49	11	22	31
	Св. 100 до 500 включ.	30	8	14	22
Пропионилпромазин	От 10 до 100 включ.	50	17	24	48
	Св. 100 до 500 включ.	35	11	16	31
Галоперидол	От 1 до 100 включ.	35	12	17	34
	Св. 100 до 500 включ.	27	8	12	22
Флуфеназин	От 1 до 500 включ.	53	18	26	50
Каразолол	От 1 до 100 включ.	45	15	22	42
	Св. 100 до 500 включ.	30	8	15	22
Ацепромазин	От 1 до 100 включ.	65	11	32	31
	Св. 100 до 500 включ.	25	8	12	22
Ксилазин	От 1 до 500 включ.	47	16	23	45
Трифлупромазин	От 1 до 100 включ.	65	23	32	64
	Св. 100 до 500 включ.	32	11	16	31
Детомидин	От 1 до 100 включ.	45	11	22	31
	Св. 100 до 500 включ.	30	9	15	25
Медетомидин	От 1 до 10 включ.	32	11	15	31
	Св. 10 до 500 включ.	25	8	12	22
Хлорпромазин	От 10 до 100 включ.	58	12	26	34
	Св. 100 до 500 включ.	32	10	16	28
Меперидин	От 1 до 100 включ.	34	11	17	31
	Св. 100 до 500 включ.	10	3	5	7
Диазепам	От 1 до 100 включ.	41	12	18	34
	Св. 100 до 500 включ.	10	3	5	8

Окончание таблицы 5

Аналит	Диапазон измерений содержания, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i, %, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Метопролол	От 1 до 10 включ.	32	6	9	17
	Св. 10 до 500 включ.	13	4	6	11
Ромифидин	От 10 до 500 включ.	13	4	6	10
Промазин	От 10 до 100 включ.	30	9	14	26
	Св. 100 до 500 включ.	13	4	6	10

Таблица 6 — Показатели точности и прецизионности метода при определении содержания седативных препаратов и адреноблокаторов в пробах мяса и молока

Аналит	Диапазон измерений содержания, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i, %, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Азаперол	От 1 до 500 включ.	29	8	12	22
Азаперон	От 1 до 100 включ.	61	20	30	56
	Св. 100 до 500 включ.	32	8	15	22
Пропионилпромазин	От 10 до 100 включ.	38	12	18	34
	Св. 100 до 500 включ.	22	7	11	20
Галоперидол	От 10 до 100 включ	48	12	15	34
	Св. 100 до 500 включ.	30	8	12	22
Флуфеназин	От 1 до 100 включ	45	10	20	28
	Св. 100 до 500 включ.	35	12	16	34
Каразолол	От 1 до 100 включ	30	9	14	25
	Св. 100 до 500 включ.	25	7	12	20
Ацепромазин	От 1 до 100 включ.	26	8	12	22
	Св. 100 до 500 включ.	22	7	11	20
Ксилазин	От 1 до 500 включ	31	10	15	28
Трифлупромазин	От 1 до 100 включ.	40	9	17	25
	Св. 100 до 500 включ.	32	9	15	25
Детомидин	От 1 до 500 включ	35	10	16	28
Медетомидин	От 1 до 500 включ	36	10	16	28
Хлорпромазин	От 1 до 10 включ.	49	16	24	45
	Св. 10 до 500 включ.	30	8	14	22
Меперидин	От 1 до 100 включ.	40	13	20	36
	Св. 100 до 500 включ.	30	9	15	25

Окончание таблицы 6

Аналит	Диапазон измерений содержания, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i, %, при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %
Диазепам	От 1 до 100 включ.	35	10	16	28
	Св. 100 до 500 включ.	28	9	14	25
Метопролол	От 1 до 100 включ.	41	13	20	36
	Св. 100 до 500 включ.	25	8	12	22
Ромифидин	От 1 до 100 включ.	35	12	16	34
	Св. 100 до 500 включ.	28	8	13	22
Промазин	От 10 до 500 включ.	27	7	12	20

11 Оформление результатов измерений

Содержание *i*-го аналита, мкг/кг, представляют в виде

$$\bar{X}_i \pm 0{,}01 \cdot U_i \cdot \bar{X}_i \text{ при } P = 0{,}95, \quad (3)$$

где $\bar{X}_i$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений содержания *i*-го аналита в анализируемой пробе, мкг/кг (см. 9.3);

U_i — значение относительной расширенной неопределенности содержания *i*-го аналита для соответствующего диапазона измерений, % (в соответствии с таблицами 5 и 6);

$0{,}01 \cdot U_i \cdot \bar{X}_i$ — значение расширенной неопределенности в абсолютных единицах, мкг/кг.

Числовое значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение расширенной неопределенности, содержащее не более четырех значащих цифр и выраженное в микрограммах на килограмм (мкг/кг).

12 Контроль стабильности результатов измерений

Контроль стабильности результатов измерений в пределах лаборатории осуществляют по ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 6.2.3) с использованием контрольных карт Шухарта.

УДК 637.07:614.3:006.354

МКС 67.050
67.100
67.120.10

Ключевые слова: продукты пищевые, продовольственное сырье, седативные препараты и адреноблокаторы, метод определения содержания с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 26.11.2018. Подписано в печать 03.12.2018. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.

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