Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств моксидектина в молоке и мясе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3244—14

Издание официальное

Москва • 2015

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств моксидектина в молоке и мясе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3244—14

ББК 51.23
О62

О62 **Определение** остаточных количеств моксидектина в молоке и мясе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—18 с.

ISBN 978—5—7508—1401—5

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Т. В. Юдина, Н. Е. Федорова, В. Н. Волкова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 6 ноября 2014 г. № 2).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 29 декабря 2014 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1401—5

© Роспотребнадзор, 2015
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
29 декабря 2014 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств моксидектина в молоке и мясе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3244—14

Свидетельство об аттестации № РОСС RU.0001.310430/0198. 14.07.14 от 14.07.2014.

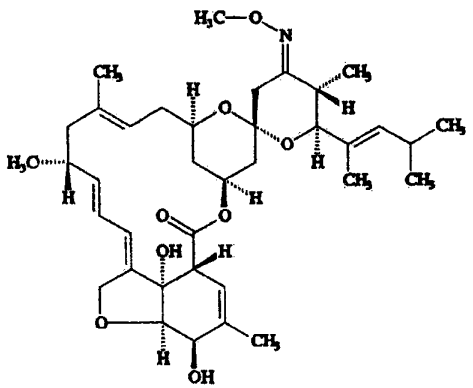
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации моксидектина в молоке и мясе в диапазоне 0,005—0,10 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Моксидектин

(10E,14E, 16E)-(1R,4S,5'S,6R,6'S,8R13R20R,21R,24S)-6'-[(1E)-1,3-диметилбут-1-енил]-21,24-дигидрокси-5',11,13,22-тетраметил-(3,7,19-триоксатетрацикло [15.6.1.14,8.020,24] пентакоза-10,14,16,22-тетраен)-6-спиро-2'-(тетрагидропиран)-2,4'-дион 4'-(Е)-(О-метилоксим) (ИЮПАК).

Структурная формула:



Брутто формула: $C_{37}H_{53}NO_8$.

Молекулярная масса 639,82.

Белое или светло желтое кристаллическое вещество. Температура плавления 145—154 °С. Хорошо растворим в полярных органических растворителях. Растворимость в воде 0,51 мг/дм^3. Моксидектин – слабое основание, pKa < 2.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 106 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов > 2 000 мг/кг.

Область применения препарата. Моксидектин – полусинтетический ветеринарный препарат, обладающий инсектицидной активностью широкого спектра, рекомендуется к применению в качестве антипаразитарного и антигельминтного препарата для сельскохозяйственных животных.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и её составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности, $P = 0,95$), $\pm \delta$, %	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, % ($P = 0,95$)
Молоко	0,005—0,1	50	7,2	10,1	20	28
Мясо	0,005—0,1	50	8,2	11,5	23	32

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	средняя полнота извлечения,%	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Молоко	0,005	0,005—0,1	96,3	5,1	±2,7
Мясо	0,005	0,005—0,1	87,8	7,1	±3,8

2. Метод измерений

Методика основана на определении моксидектина с использованием обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуориметрическим детектором после извлечения вещества из анализируемой пробы молока и мяса ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, превращения моксидектина во флуорогенное производное. Экстракты

мяса после дериватизации подвергают дополнительной очистке на патроне для твердофазной экстракции на основе силикагеля.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с флуориметрическим детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности ± 0,2 мг	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г, класс точности высокий (II)	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ 7328—01
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Моксидектин, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 97,4 %	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-4326—76
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан (гексан), для хроматографии	ТУ 6-09-06-657—84

Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Кислота ортофосфорная, хч, 85 %	ГОСТ 6552—80
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
1-N-метилимидазол, для синтеза, чистота ≥ 99 %	
Патроны концентрирующие для твердофазной экстракции, 360 мг сорбента на основе силикагеля	
Трифторуксусный ангидрид, чистота ≥ 98,0 %	
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора), хч	ТУ 6-09-4173—85

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующих дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства и материалы

Аллонж прямой с отводом для вакуума (для работы с концентрирующими патронами)	
Аппарат для встряхивания, орбита до 10 мм	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст.	ТУ 2504-1799—75
Воронка делительная вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные диаметром 36—40 мм и 56—60 мм	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Гомогенизатор	
Груша резиновая	ТУ 9398-05-0576-9082—03
Колбы конические (плоскодонные) с пришлифованной пробкой вместимостью 250—300 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 50, 150 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Мембраны микропористые капроновые, размер пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—03
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	

Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические вместимостью 100 и 400 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник водяной обратный	ГОСТ 9737—93
Хроматографическая колонка стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 5 мкм; предколонка стальная длиной 12,5 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 5 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—100 $мм^3$	
Шприц медицинский инъекционный однократного применения вместимостью 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 24861—91 (ИСО 7886—84)

Примечание. Допускается использование вспомогательных средств измерений, устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений допускают специалиста, прошедшего обучение, освоившего методику, владеющего техникой имеющего опыт работы на жидкостном хроматографе и подтвердившего соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;

• выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление реактива для дериватизации, градуировочных растворов, раствора внесения, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка патронов для очистки экстрактов.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм^3 ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм^3 ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.1.2. н-Гексан

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты, до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

7.2.1. Приготовление 0,1 %-го раствора ортофосфорной кислоты.

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 250—300 м^3 деионизованной воды, вносят 0,5 см^3 ортофосфорной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

7.2.2. Приготовление подвижной фазы.

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 950 см^3 ацетонитрила и 50 см^3 0,1 %-го раствора ортофосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

Подвижную фазу хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 30 дней.

7.3. Приготовление реактива для дериватизации

Смешивают трифторуксусный ангидрид и свежеперегнанный ацетонитрил в объемном соотношении 1 : 2. Реактив годен в течение рабочего дня.

7.4. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2.) при скорости подачи растворителя 1,0 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.5. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.5.1. Исходный раствор моксидектина для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,0100 г моксидектина, растворяют в 50—60 см^3 ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике (защищенном от света месте) при температуре 5 °С в течение месяца.

Растворы № 1—6 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

7.5.2. Раствор № 1 моксидектина для градуировки и внесения (концентрация 1 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного раствора моксидектина с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.5.1), разбавляют ацетонитрилом до метки.

Раствор хранят в холодильнике (защищенном от света месте) при температуре (4 ± 2) °С в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб мяса и молока с внесением моксидектина при оценке полноты извлечения вещества методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.5.3. Рабочие растворы № 2—6 моксидектина для градуировки (концентрация 0,005—0,1 мкг/см^3). В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5, 1,0, 2,0, 5,0 и 10 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 1 мкг/см^3 (п. 7.5.2), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—6 с

концентрацией моксидектина 0,005, 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранят в холодильнике (защищенном от света месте) при температуре (4 ± 2) °С в течение месяца.

7.5.4. Рабочие растворы № 2а—6а флуорогенного производного моксидектина для градуировки (соответствуют содержанию моксидектина 0,005—0,1 мкг). В 5 градуированных пробирок вместимостью 5 см^3 вносят по 1 см^3 каждого из 5 рабочих растворов моксидектина № 2—6 (п. 7.5.3), прибавляют по 0,1 см^3 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0—5 °С, помещая пробирки в ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 см^3 реактива для дериватизации (приготовленного по п. 7.3), перемешивают и выдерживают час при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку вносят по 2 см^3 ацетонитрила, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2а—6а флуорогенного производного с содержанием моксидектина 0,005, 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг соответственно.

Растворы хранят в холодильнике (защищенном от света месте) при температуре (4 ± 2) °С в течение месяца. Срок хранения растворов при комнатной температуре в темноте – не более суток.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (единицы люминесценции – ЕЛ · с) от содержания моксидектина в растворе (мкг), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 растворам флуорогенного производного моксидектина № 2а—6а для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 50 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений.

7.7. Подготовка патрона для очистки экстрактов

Патрон для твердофазной экстракции устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума*, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом Льюера объемом не менее 10 см^3, используемый в качестве емкости для элюента.

Концентрирующий патрон промывают 5 см^3 метанола, высушивают пропусканием воздуха (с использованием вакуума) в течение 5 мин. За-

* В отсутствии специального аллонжа, жидкость продавливают через патрон с помощью шприца медицинского, скорость продавливания раствора не должна превышать 1—2 капли в секунду.

тем через патрон пропускают 5 см^3 гексана. Процедуру проводят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см^3/мин, при этом нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб продуктов питания осуществляется в соответствии с требованиями ГОСТ на исследуемые продукты: ГОСТ 7269—79 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести», ГОСТ 3622—68 «Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию».

Обобранные образцы продуктов герметично упаковывают в полиэтиленовые мешки, стеклянные банки с притертыми крышками. Образцы анализируют непосредственно после отбора проб или хранят в морозильной камере при –20 °С.

Перед анализом образцы мяса массой 200—300 г тщательно измельчают с использованием гомогенизатора. Пробу гомогенизированного образца массой 10 г, а также молока массой 5 г взвешивают на аналитических весах в плоскодонных колбах вместимостью 250 см^3.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

К пробе гомогенизированного образца мяса массой 10 г или молока массой 5 г, помещенной в колбу вместимостью 250 см^3, приливают 100 см^3 ацетонитрила, тщательно перемешивают путем встряхивания, выдерживают на ультразвуковой бане 5 мин, помещают на встряхиватель на 30 мин, дополнительно выдерживают на ультразвуковой бане 5 мин и снова помещают на встряхиватель на 30 мин.

Колбы с экстрактами помещают на 30 мин в морозильную камеру. Затем надосадочную жидкость переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, фильтруя ее через тампон из стекловаты, помещенный в конусную химическую воронку. Добавляют 70 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой сливают в круглодонную колбу и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 40 °С. Сухой остаток растворяют в смеси 14 см^3 ацетонитрила и 56 см^3 воды, помещая на ультразвуковую баню на 1 мин. Раствор переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, добавляют 70 см^3 гексана, интенсивно встряхивают воронку в течение 1 мин. Верхний

органический слой собирают в круглодонную колбу вместимостью 250 см^3. Водно-ацетонитрильную фазу вновь переносят в делительную воронку и повторяют операцию экстракции, используя 70 см^3 гексана.

Объединенную органическую фазу упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 40 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 ацетонитрила. Аликвоту раствора объемом 1 см^3, ($^1/_5$ часть пробы, эквивалентная 1 г молока и 2 г мяса) переносят в градуированную пробирку на 5 см^3 и подвергают дериватизации по п. 9.2.

9.2. Дериватизация

К ацетонитрильному раствору прибавляют 0,1 см^3 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0—5 °С, помещая колбу в ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 см^3 реактива для дериватизации (п. 7.3), перемешивают и выдерживают час при комнатной температуре. Затем в пробирку вносят по 2 см^3 ацетонитрила, тщательно перемешивают.

Дериватизированные экстракты проб молока анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4.

Дериватизированные экстракты проб мяса подвергают дополнительной очистке по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта

Аликвоту раствора после дериватизации объемом 1,7 см^3 переносят в градуированную пробирку вместимостью 10 см^3, добавляют 5 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, верхний гексановый слой отбирают с помощью пипетки, перенося в колбу вместимостью 25 см^3, операцию экстракции повторяют новой порцией гексана объемом 5 см^3. Верхний гексановый слой также переносят в колбу, объединяя с первым экстрактом. Объединенный гексановый экстракт вносят на патрон для твердофазной экстракции, подготовленный по п. 7.7. Скорость прохождения раствора через патрон не должна превышать 1—2 капли в секунду. Элюат собирают непосредственно в круглодонную колбу.

Флуорогенное производное моксидектина дополнительно элюируют с патрона 5 см^3 гексана, также объединяя элюат с первой порцией в круглодонной колбе. Раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Остаток в колбе растворяют в 1,7 см^3 ацетонитрила и анализируют на содержание моксидектина по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах.

Жидкостный хроматограф с флуориметрическим детектором с переменной длиной волны, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником, термостатом колонки.

Длина волны: возбуждение 365 нм;
эмиссия 470 нм.

Хроматографическая колонка стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: 35 °С.

Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 50 $мм^3$.

Подвижная фаза: ацетонитрил – 0,1 % ортофосфорная кислота (95 : 5, по объему).

Линейный диапазон детектирования 0,25—2,5 нг.

Пробу вводят в инжектор хроматографа. Устанавливают площадь пика флуорогенного производного моксидектина.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор флуорогенного производного моксидектина с содержанием 0,1 мкг, разбавляют ацетонитрилом (не более чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

Содержание моксидектина в пробах (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{пр.} \cdot C \cdot D}{S_{ст.} \cdot m}, \text{ где}$$

$S_{пр.}$ – площадь пика флуорогенного производного моксидектина в анализируемом образце (ЕЛ*с);

C – содержание моксидектина в градуировочном растворе, мкг;

$S_{пр.}$ – площадь пика флуорогенного производного моксидектина в градуировочном растворе (ЕЛ*с);

m – масса анализируемого образца, г;

D – коэффициент, учитывающий объем экстракта, взятого для анализа, $D = 5$ (молоко); $D = 10$ (мясо).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предел повторяемости:

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r \text{, где} \qquad (1)$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$$(\bar{X} \pm \Delta) \text{ мг/кг при вероятности } P = 0{,}95, \text{ где}$$

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100} \text{, где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание моксидектина в пробах молока и мяса – менее 0,005 мг/кг»**.

* – 0,005 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание моксидектина в которых должно охватывать весь диапазон от 0,005 до 0,1 мкг.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого градуировочного раствора, используемого для контроля, сохраняется соотношение:

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \leq B \text{, где} \qquad (2)$$

X – содержание моксидектина в пробе при контрольном измерении, мкг;

C – известное содержание моксидектина в градуировочном растворе, взятом для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг;

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (равен 10 % при $P = 0,95$).

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов флуорогенного производного моксидектина, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.6.

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'} \text{, где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг.

Допустимо характеристику погрешности результатов анализа при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражения

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$ с последующим уточнением по мере накопления информации:

$$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta, \text{ где}$$

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Контроль проводят путем сравнения результата контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля K.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}}$$

Проводят сопоставление результата контрольной процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (3)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (3) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (3) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предел воспроизводимости (R):

$$\frac{2\cdot|X_1 - X_2|\cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq R \text{, где} \qquad (4)$$

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

R – предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Определение остаточных количеств моксидектина в молоке и мясе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3244—14

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина
Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой
Подписано в печать 15.12.15
Формат 60x84/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 80

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru