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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
ISO 13493—
2014**

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения содержания хлорамфеникола (левомицетина) с помощью жидкостной хроматографии

(ISO 13493:1998, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИПП» Россельхозакадемии) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 июня 2014 г. № 45)

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
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

(Поправка).

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 сентября 2014 г. № 1048-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 13493—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 13493:1998 «Мясо и мясные продукты. Определение содержания хлорамфеникола. Метод жидкостной хроматографии» («Meat and meat products — Determination of chloramphenicol content — Method using liquid chromatography», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 6 «Мясо и мясные продукты» Технического комитета ISO/TC 34 «Пищевые продукты».

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р ИСО 13493—2005*

7 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

8 ИЗДАНИЕ (ноябрь 2019 г.) с Поправкой (ИУС 10—2019)

---

* Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 сентября 2014 г. № 1048-ст национальный стандарт ГОСТ Р ИСО 13493—2005 отменен с 1 января 2016 г.

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

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

© ISO, 1998 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2015, 2019

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

Метод определения содержания хлорамфеникола (левомицетина) с помощью жидкостной хроматографии

Meat and meat products. Method for determination of chloramphenicol (levomycetin) content using liquid chromatography

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания хлорамфеникола (левомицетина) в мышечной ткани мяса, включая мясо птицы, с помощью жидкостной хроматографии.

Данный метод применим для определения хлорамфеникола при его содержании более 6,5 мкг/кг.

Данный метод неприменим к испорченным образцам.

Примечание — Настоящий стандарт допускается применять для определения содержания хлорамфеникола во всех видах мяса и мясопродуктов. Однако межлабораторные испытания по установлению точности метода были проведены только на образцах мышечной ткани.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения).

ISO 3696:1987, Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Спецификация и методы испытаний)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **содержание хлорамфеникола в мясе и мясных продуктах:** Содержание хлорамфеникола, измеренное в соответствии с методом, указанным в настоящем стандарте.

Примечание — Содержание хлорамфеникола выражают в микрограммах на килограмм.

4 Сущность метода

Хлорамфеникол из части пробы для анализа экстрагируют водой. Экстракт фильтруют и полученный водный раствор очищают от липофильных компонентов методом твердофазной экстракции. Хлорамфеникол элюируют с экстракционного патрона дихлорметаном. Органический растворитель выпаривают и остаток очищают с помощью жидкостной экстракции в системе вода — толуол. Хлорамфеникол определяют методом обращенно-фазной хроматографии с детектированием в ультрафиолетовой (УФ) области спектра.

Издание официальное

5 Реактивы

При отсутствии специальных указаний используют реактивы только официально признанной аналитической чистоты.

5.1 Вода, согласно требованиям ISO 3696, должна быть не ниже 3-й степени чистоты. Вода не должна содержать органические примеси.

5.2 Азот, пригодный для выпаривания растворителей.

5.3 Дихлорметан.

5.4 Толуол.

5.5 Ацетатный буфер, $c(CH_3CO_2Na)$ = 0,01 моль/дм^3, pH = 4,3

Растворяют 0,82 г безводного ацетата натрия примерно в 970 см^3 воды. С помощью pH-метра (см. 6.1) доводят pH до 4,3 добавлением уксусной кислоты массовой долей 50 %. Переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1000 см^3. Доводят водой до метки и перемешивают.

5.6 Ацетонитрил для УФ спектроскопии.

5.7 Подвижная фаза

К 250 см^3 ацетонитрила (см. 5.6) добавляют 750 см^3 ацетатного буфера (см. 5.5) и тщательно перемешивают.

Перед использованием элюент фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм (см. 6.2) и дегазируют.

5.8 Основной раствор хлорамфеникола массовой концентрации 100 мкг/см^3

Взвешивают 10 мг хлорамфеникола с точностью 0,1 мг и переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Добавляют метанол до метки и перемешивают.

Приготовленный основной раствор стабилен в течение 1 мес при хранении в темноте.

5.9 Стандартные растворы хлорамфеникола

Пипеткой вносят 5,0 см^3 основного раствора (см. 5.8) в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Разбавляют водой до метки и перемешивают.

Разбавляют 1,0, 2,0, 5,0 и 15,0 см^3 этого раствора до 100 см^3 для получения четырех стандартных растворов с массовой концентрацией хлорамфеникола соответственно 0,05; 0,10; 0,25 и 0,75 мкг/см^3.

Эти стандартные растворы стабильны в течение одной недели при хранении в темноте.

6 Оборудование

Используют обычное лабораторное оборудование, в частности:

6.1 pH-метр.

6.2 Мембранный фильтр с малым мертвым объемом и размером пор 0,22 мкм.

6.3 Механическое или электрическое устройство, пригодное для измельчения образца.

В качестве такого устройства могут быть использованы высокоскоростной ротационный куттер или мясорубка с решеткой, диаметр отверстий которой не превышает 4,0 мм.

6.4 Лабораторный гомогенизатор (например, гомогенизатор типа Стомахер или Вортекс)[1)].

6.5 Фильтровальная бумага обеззоленная быстрофильтрующая диаметром примерно 15 см.

Примечание — Например, можно использовать Ватман 41[1)].

6.6 Экстракционные патроны вместимостью 20 см^3 с диатомитовой землей, которая задерживает липофильные компоненты из водных растворов.

Примечание — Можно использовать, например, картриджи Extrelut@ производства фирмы Merk, Дармштадт, Германия (№ 11737)[1)].

6.7 Водяная баня или нагревательный блок, позволяющие поддерживать температуру (40 ± 1) °С с устройством для выпаривания потоком азота (см. 5.2), или ротационный испаритель.

[1)] Это примеры коммерчески доступной продукции. Данная информация приведена только для удобства пользователей настоящего стандарта и не является поддержкой разработчика.

6.8 Центрифужные пробирки вместимостью 25 $см^3$.

6.9 Смеситель для пробирок типа Вортекс, обеспечивающий частоту вращения примерно 700 $мин^{-1}$.

6.10 Центрифуга, обеспечивающая радиальное ускорение примерно 1000 g.

6.11 Микропипетки вместимостью 300 $мм^3$.

6.12 Жидкостной хроматограф, оборудованный:

- насосом постоянного потока;
- инжектором;
- хроматографической колонкой внутренним диаметром 3 мм, длиной 20 см, заполненной обращенной фазой С8 или С18 с размером частиц 5 мкм, или другой колонкой с эквивалентными характеристиками;
- детектором УФ/ВИД, обеспечивающим измерение при длине волны 285 нм, если возможно — диодно-матричным детектором (используется для подтверждения обнаружения хлорамфеникола);
- самописцем с регулируемым диапазоном измерения или интегратором.

7 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, изложенного в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в [1].

Очень важно, чтобы в лабораторию поступали представительные пробы, которые в процессе хранения и транспортирования не были испорчены или изменены.

От представительной пробы, поступившей в лабораторию, отбирают лабораторную пробу массой не менее 200 г. Пробу хранят в условиях, исключающих ее порчу и изменение состава.

8 Подготовка пробы для анализа

Доводят температуру пробы до комнатной. Удаляют жировую ткань и несъедобные части пробы.

Измельчают лабораторную пробу с помощью устройства (см. 6.3). При этом следят за тем, чтобы температура пробы не превышала 25 °С. При использовании мясорубки пробу пропускают через нее не менее двух раз.

Приготовленную пробу помещают в герметично закрываемую емкость. Закрывают и хранят так, чтобы не допустить порчи и изменения ее состава.

При необходимости пробу хранят при температуре менее минус 18 °С.

Анализ пробы проводят как можно быстрее, но не позднее 24 ч после измельчения.

9 Проведение анализа

Примечание — Для контроля повторяемости результатов (см. 11.2) проводят два параллельных определения в соответствии с 9.1—9.6.

9.1 Общая часть

Параллельно с анализом раствора (или серии растворов), полученного из анализируемой пробы (или нескольких анализируемых проб), проводят анализ раствора, полученного из пробы, заведомо не содержащей хлорамфеникол (контрольная проба), и раствора, полученного из пробы, в которую добавлен хлорамфеникол в количестве 10 мкг/кг (контрольная проба с внесенным хлорамфениколом).

9.2 Подготовка части пробы для анализа

В конической колбе вместимостью 100 $см^3$ взвешивают 10 г (m) измельченной анализируемой пробы (см. раздел 8) с точностью 0,1 г.

9.3 Приготовление экстракта

Добавляют 40,0 $см^3$ воды и энергично перемешивают в течение 3 мин с помощью лабораторного гомогенизатора (см. 6.4).

Общий объем образующейся водной фазы (V_1) равен 40,0 см^3 плюс объем воды, содержащейся в части пробы для анализа (обычно в 10 г пробы содержится примерно 7,5 см^3 воды).

Гомогенат фильтруют через бумажный фильтр (см. 6.5).

9.4 Вердофазная экстракция

Переносят 20 см^3 полученного фильтрата (V_2) в экстракционный патрон (см. 6.6).

Через (15 ± 2) мин элюируют хлорамфеникол с помощью 70 см^3 дихлорметана (см. 5.3). Выпаривают органическую фазу до объема примерно 1 см^3 на водяной бане (см. 6.7) в слабом потоке азота (см. 5.2) или с помощью ротационного вакуумного испарителя (см. 6.7).

С помощью примерно 10 см^3 дихлорметана (см. 5.3) переносят остаток в центрифужную пробирку (см. 6.8).

Осторожно выпаривают досуха.

9.5 Жидкостная экстракция

К остатку добавляют 400 мм^3 воды (V_3) и 2,0 см^3 толуола (см. 5.4) и перемешивают с умеренной интенсивностью в течение 1 мин на смесителе Вортекс (см. 6.9) с частотой вращения примерно 700 мин$^{-1}$.

Центрифугируют в течение 5 мин на центрифуге (см. 6.10) с радиальным ускорением 1000 g.

Пипеткой отбирают как можно больше органической фазы и отбрасывают ее.

Добавляют 1,5 см^3 толуола и перемешивают с умеренной интенсивностью в течение 1 мин на смесителе Вортекс (см. 6.9) с частотой вращения примерно 700 мин$^{-1}$.

Центрифугируют в течение 5 мин на центрифуге (см. 6.10) с радиальным ускорением 1000 *g*.

Пипеткой отбирают как можно больше органической фазы и отбрасывают ее.

Микропипеткой (см. 6.11) переносят 300 мм^3 водной фазы в подходящий сосуд.

9.6 Хроматографический анализ

9.6.1 Условия хроматографирования

Длина волны	285 нм;
диапазон шкалы детектора	от 0,005 до 0,010 единиц оптической плотности, что соответствует полной шкале самописца;
шкала самописца	10 мВ;
скорость бумаги самописца	1,0 см/мин;
объемная скорость потока подвижной фазы (см. 5.7)	0,6 см^3/мин;
объем анализируемого раствора, вводимый (инжектируемый) в хроматограф	100 мм^3.

Примечание — Инжектируемый объем и объемная скорость потока зависят от размеров колонки.

9.6.2 Хроматографирование

После стабилизации системы жидкостного хроматографа (см. 6.12) инжектируют растворы, полученные из контрольной пробы и контрольной пробы с внесенным хлорамфениколом, четыре стандартных раствора хлорамфеникола (см. 5.9), раствор, приготовленный из анализируемой пробы по 9.5, и снова стандартные растворы хлорамфеникола (см. 5.9).

На хроматограммах проб проверяют наличие сигнала на участке, соответствующем времени удерживания хлорамфеникола.

9.6.3 Измерение

Измеряют высоты или площади хроматографических пиков хлорамфеникола для анализируемого раствора и стандартных растворов хлорамфеникола.

Измеренные для стандартных растворов высоты или площади пиков должны линейно зависеть от содержания хлорамфеникола в этих растворах.

Примечание — С помощью диодно-матричного детектора может быть подтверждено обнаружение хлорамфеникола при его содержании в образце более 10 мкг/кг.

10 Обработка результатов

Содержание хлорамфеникола w, мкг/кг, в анализируемой пробе рассчитывают по формуле

$$w = \frac{h \cdot \rho \cdot V_1 \cdot V_3}{h_S \cdot m \cdot V_2},$$

где h — высота или площадь пика в единицах длины или площади, измеренные для анализируемого раствора;

h_S — высота или площадь пика, измеренные для одного из стандартных растворов (см. 5.9);

ρ — содержание хлорамфеникола в стандартном растворе, мкг/см^3;

m — масса части пробы для анализа (см. 9.2), г;

V_1 — объем водной фазы, полученной после гомогенизации по 9.3, см^3 (V_1 = 40 см^3 + объем воды в пробе, взятой для анализа);

V_2 — объем фильтрата (V_2 = 20 см^3), перенесенного по 9.4 в экстракционный патрон, см^3;

V_3 — объем воды (V_3 = 400 мм^3), добавленной по 9.5 к сухому остатку, мм^3.

Результат вычислений округляют до 0,1 мкг/кг.

Результат испытаний нельзя корректировать на открываемость. Открываемость должна быть указана в протоколе испытаний (см. раздел 12).

11 Точность

11.1 Межлабораторные испытания

Точность метода была установлена с помощью межлабораторных испытаний, проведенных в соответствии с [2][1)].

Результаты этой межлабораторной проверки опубликованы в [5]. Результаты этой проверки не могут быть распространены на области концентраций и матрицы, отличные от указанных в настоящем стандарте.

Результаты другой межлабораторной проверки, проведенной в соответствии с ISO 5725, показывают, что открываемость для мяса, мясных продуктов и мяса птицы воспроизводима и равна примерно 55 %.

11.2 Повторяемость

Абсолютное значение разности результатов двух независимых единичных испытаний, выполненных за короткий промежуток времени одним методом для одной идентичной анализируемой пробы в одной лаборатории одним оператором на одном и том же оборудовании, может превышать 2,1 мкг/кг не более чем в 5 % случаев при содержании хлорамфеникола в образце 10 мкг/кг.

11.3 Воспроизводимость

Абсолютное значение разности результатов двух независимых единичных испытаний, выполненных одним методом для идентичной анализируемой пробы в разных лабораториях разными операторами с использованием разного оборудования, может превышать 4,9 мкг/кг не более чем в 5 % случаев при содержании хлорамфеникола в образце 10 мкг/кг.

12 Протокол испытаний

В протоколе испытания необходимо указать:

- информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- использованный метод отбора проб (если известен);
- использованный метод испытаний с указанием ссылки на настоящий стандарт;
- условия проведения анализа, не отраженные в настоящем стандарте или считающиеся неоднозначными, а также все имевшие место случаи, которые могут повлиять на результаты анализа;
- полученный результат анализа или два результата анализа, если проводилась проверка повторяемости;
- открываемость.

[1)] Получение результатов по точности проводилось по ISO 5725:1986 (в настоящее время отменен).

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1 — Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Обозначение международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 3696:1987	—	*
* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.		

Библиография

[1] ISO 3100-1:1991 Meat and meat products — Sampling and preparation of test samples — Part 1: Sampling (Мясо и мясные продукты. Отбор образцов и подготовка проб. Часть 1. Отбор образцов)

[2] ISO 5725:1986* Precision of test methods — Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests (Точность методов испытаний. Определение повторяемости и воспроизводимости стандартного метода испытаний с помощью межлабораторных испытаний)

[3] ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions (Точность (правильность и прецизионность) методов измерений и результатов. Часть 1. Общие принципы и определения)

[4] ISO 5725-2:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (Точность (правильность и прецизионность) методов измерений и результатов. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений)

[5] Aerts M.L., Keukens H.J., Werdmuller G.A. Liquid Chromatographic Determination of Chloramphenicol Residues in Meat: Interlaboratory Study. JAOAC, 72 (4), 1989, pp. 570—576

* Заменен на ISO 5725-1:1994, ISO 5725-2:1994, ISO 5725-3:1994, ISO 5725-4:1994, ISO 5725-5:1998, ISO 5725-6:1994.

УДК 637.544:006.354 МКС 67.120.10

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, хлорамфеникол, левомицетин, жидкостная хроматография

Редактор *Ю.А. Расторгуева*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 27.11.2019. Подписано в печать 09.12.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во 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