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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32834— 2014

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения остаточного содержания антгельминтиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, 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 25 июня 2014 г. № 45-2014)

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
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 19 августа № 903-ст ГОСТ 32834–2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 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

© Стандартинформ, 2015

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Сущность метода 2
4 Условия выполнения измерений и требования безопасности 2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы 3
6 Подготовка к проведению измерений 5
6.1 Подготовка лабораторной посуды и реактивов 5
6.2 Приготовление растворов 5
6.3 Приготовление градуировочных растворов 6
6.4 Построение градуировочной характеристики 7
6.5 Условия хроматографических измерений 12
7 Отбор и подготовка проб 13
7.1 Отбор проб 13
7.2 Подготовка проб 13
8 Порядок выполнения измерений 14
8.1 ВЭЖХ-МС/МС анализ 14
8.2 Контроль качества измерений 14
9 Обработка результатов измерений 14
10 Метрологические характеристики 16
11 Оформление результатов измерений 17
12 Контроль качества результатов измерений 17
12.1 Контроль полноты извлечения внутренних стандартов антгельминтиков 17
12.2 Контроль неопределенности результатов измерений 18
Приложение А (обязательное) Контроль стабильности результатов измерений 19

Поправка к ГОСТ 32834—2014 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания антгельминтиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 4.1	- температура окружающего воздуха . . . от 20 °С до 30 °С;	- температура окружающего воздуха . . . от 15 °С до 30 °С;
	- напряжение в питающей сети . . . от 200 до 240 В;	—
	- частота переменного тока . . . от 49 до 51 Гц;	—
	- относительная влажность воздуха . . . от 40 % до 80 %.	- относительная влажность воздуха . . . от 20 % до 80 %.

(ИУС № 7 2017 г.)

МКС 67.050, 67.100, 67.120, 67.180

Поправка к ГОСТ 32834—2014 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания антгельминтиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 2	—	ГОСТ 29245—91 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей
Пункт 7.2.4. Последний абзац	—	Сухие молочные продукты восстанавливают по ГОСТ 29245 (пункт 3.4).

(ИУС № 10 2018 г.)

МКС 67.050, 67.100, 67.120, 67.180

Поправка к ГОСТ 32834—2014 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания антгельминтиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 2	ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования	—
Пункт 5.1, шестое перечисление	по ГОСТ 24104,	—
седьмое перечисление	- весы микроаналитические, с наибольшим пределом взвешивания 52 г, с пределом абсолютной допускаемой погрешности не более ± 0,001 мг;	- весы специального класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности взвешивания не более ± 0,1 мг;
Таблица 4, вторая строка	Нитроксинил | 15,2 | 290,1 | 162,9/126,8	—
Пункт 9.5, формула (4)	$\leq r$	$\leq r_{отн}$

(ИУС № 4 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 антгельминтиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Food products, food raw materials.
Method for determination of the anthelminthic
by high performance liquid chromatography — mass spectrometry

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты в части молока, молочных продуктов, мяса и мясных продуктов, мяса и продуктов из мяса птицы, яиц, яичного порошка, яичного меланжа, а также продовольственное сырье и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (далее по тексту — ВЭЖХ-МС/МС) для определения остаточного содержания антгельминтиков в диапазоне измерений от 1,0 до 1000,0 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 12.1.018–93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

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 2603–79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

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

ГОСТ Р ИСО 5725-6–2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 3117–78 Реактивы. Аммоний уксуснокислый. Технические условия

ГОСТ 5848–73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7269–79 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 13867–68 Продукты химические. Обозначения чистоты

Издание официальное

ГОСТ 18270–72 Кислота уксусная особой чистоты. Технические условия

ГОСТ 18300–87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

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

ГОСТ 24104–2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

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

ГОСТ 26809–86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

ГОСТ 27752–88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

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 Сущность метода

Количественное определение остаточного содержания антгельминтиков проводят методом внутреннего стандарта по площадям пиков идентифицированных соединений с помощью градуировочной характеристики, полученной при анализе градуировочных растворов известных соединений в аналогичных условиях.

4 Условия выполнения измерений и требования безопасности

4.1 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха ..... от 20 °С до 30 °С;
- атмосферное давление ..... от 84 до 106 кПа;
- напряжение в питающей сети ..... от 200 до 240 В;
- частота переменного тока ..... от 49 до 51 Гц;
- относительная влажность воздуха ..... от 40 % до 80 %.

4.2 Хроматографические измерения проводят в условиях, указанных инструкцией по эксплуатации соответствующего прибора.

4.3 Применяемые в работе реактивы относятся к веществам 1-го и 2-го класса 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.

4.4 Помещения, в которых проводится анализ и подготовка проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией.

4.5 Приготовление градуировочных растворов проводят под тягой в вытяжном шкафу.

4.6 При проведении испытаний соблюдают требования ГОСТ 12.2.085.

4.7 При выполнении измерений на хромато-масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019, пожаровзрывобезопасности по ГОСТ 12.1.018 и инструкции по эксплуатации прибора.

4.8 К выполнению измерений методом ВЭЖХ-МС/МС допускаются лица, владеющие техникой ВЭЖХ-МС/МС и изучившие инструкции по эксплуатации применяемой аппаратуры.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

5.1 Для определения остаточного содержания антгельминтиков применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование и материалы:

- масс-спектрометр с диапазоном измерений от 5 до 1250 атомных единиц массы (а. е. м.), массовым разрешением не менее 1250, с пределом среднеквадратического отклонения случайной составляющей измерения массового числа не более 0,03 а. е. м., с режимом получения и анализа фрагментных ионов (режим МС/МС);
- колонку хроматографическую обращенно-фазную длиной не менее 150 мм с диаметром частиц сорбента не более 5,0 мкм;
- систему высокоэффективную жидкостную хроматографическую, состоящую из бинарного насоса со смесителем, термостата хроматографической колонки, обеспечивающего температуру нагрева до (45,0 ± 0,8) °С;
- компьютер с установленным программным обеспечением для управления масс-спектрометром и обработки результатов измерений;
- часы электронно-механические по ГОСТ 27752;
- весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,01 г или весы лабораторные по ГОСТ 24104, высокого или специального класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 500 г и ценой поверочного деления 0,1 мг;
- весы микроаналитические, с наибольшим пределом взвешивания 52 г, с пределом абсолютной допускаемой погрешности не более ± 0,001 мг;
- модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 60 °С;
- измельчитель-гомогенизатор погружной лабораторный со скоростью измельчающей насадки от 200 до 5000 об/мин;
- встряхиватель (шейкер) вибрационный для пробирок, орбитального типа движения с амплитудой встряхивания 3 мм и диапазоном скоростей от 150 до 2500 об/мин;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения не менее 15000 об/мин и диапазоном задаваемых температур от 4 °С до 20 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15 $см^3$ и микроцентрифужных пробирок вместимостью 1,5 $см^3$;
- баню ультразвуковую с рабочей частотой не менее 20 Гц и объемом не менее 1 $дм^3$;
- насос водоструйный вакуумный;
- фильтры мембранные из нейлона с размером пор 0,2 мкм;
- картриджи для твердофазной экстракции объемом не менее 3 $см^3$, содержащие 200 мг обращенно-фазного сорбента С18 с размером диаметра частиц не более 50 мкм;
- пипетки одноканальные переменной вместимости 2,5 — 10,0 $мм^3$, 5 — 50 $мм^3$, 20 — 200 $мм^3$, 100 — 1000 $мм^3$ с допустимой относительной погрешностью дозирования по метанолу и ацетонитрилу не более 1 %;
- виалы (флаконы) стеклянные для автосамплера вместимостью 2 $см^3$ с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками 9 мм;
- пробирки полипропиленовые вместимостью 15 $см^3$ с завинчивающимися крышками;
- пробирки полипропиленовые микроцентрифужные вместимостью 1,5 $см^3$;
- пробирки П-2-10-14/23ХС по ГОСТ1770;
- колбы конические Кн–1–250–29/32 ТС по ГОСТ 25336;
- пипетки стеклянные градуированные по ГОСТ 29227;
- колбы 1–25(1000)–2 по ГОСТ 1770;
- цилиндры 1-50(100, 500)-1 по ГОСТ 1770;
- шкаф сушильный лабораторный с рабочим диапазоном температур от 50 °С до 200 °С;
- систему получения деионизированной воды высокой чистоты;
- холодильник бытовой с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от 0 °С до 5 °С;
- камеру лабораторную морозильную с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от минус 30 °С до минус 40 °С.

5.2 Для определения остаточного содержания антгельминтиков используют следующие реактивы:

- этилацетат по ГОСТ 22300, х. ч.;
- ацетон по ГОСТ 2603;
- спирт этиловый по ГОСТ 18300;
- аммоний уксуснокислый по ГОСТ 3117, х. ч.;
- кислоту муравьиную по ГОСТ 5848, ч. д. а.;
- кислоту уксусную по ГОСТ 18270;
- воду деионизированную для ВЭЖХ, полученную с использованием системы производства ультрачистой воды из дистиллированной воды по ГОСТ 6709;
- метанол, х. ч.;
- н-гексан, х. ч.;
- ацетонитрил, ч. д. а.

Все реактивы должны относиться к подгруппе чистоты 2 (х. ч.) или 3 (ч. д. а.) по ГОСТ 13867.

5.3 При определения остаточного содержания антгельминтиков в качестве стандартных веществ применяют:

5.3.1 Антгельминтики и их производные для приготовления стандартных растворов с содержанием основного вещества не менее 95,0 %:

- альбендазол;
- альбендазола сульфон;
- альбендазола сульфоксид;
- альбендазола 2-аминосульфон гидрохлорид;
- камбендазол;
- клозантел;
- левамизола гидрохлорид;
- мебендазол;
- аминомебендазол;
- гидроксимебендазол;
- никлозамид;
- оксибендазол;
- оксибендазола амин гидрохлорид;
- оксиклозанид;
- оксфендазола сульфон;
- оксфендазол;
- парбендазол;
- пирантела памоат;
- празиквантел;
- рафоксанид;
- салантел;
- тиабендазол;
- гидрокситиабендазол;
- триклабендазол;
- триклабендазола сульфон;
- триклабендазола сульфоксид;
- кетотриклабендазол;
- аминотриклабендазол;
- фебантел;
- фенбендазол;
- флюбендазол;
- аминофлюбендазол;
- клорсулон;
- нитроксинил;
- морантел;
- нетобимин.

5.3.2 Антгельминтики и их производные для приготовления внутренних стандартных растворов с содержанием основного вещества не менее 95,0 %:

- альбендазола сульфон — *D*3;
- альбендазол — *D*3;
- альбендазола сульфоксид — *D*3;
- тетрамизол — *D*5 гидрохлорид;
- триклабендазол — *D*3;
- тиабендазол — 13*C*6;
- фенбендазол — *D*3;
- фенбендазола сульфон — *D*3;
- оксфендазол — *D*3;
- оксибендазол — *D*7;
- оксибендазола амин — *D*7;
- флюбендазол — *D*3;
- мебендазол — *D*3;
- гидроксимебендазол — *D*3;
- метилкарбамат;
- камбендазол — *D*7;
- фебантел — *D*6.

5.4 Допускается применение других средств измерений и вспомогательного оборудования с метрологическими и техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не ниже указанных.

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. Не допускается проведение подготовки посуды в данном помещении для других видов анализов. 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 подвижных фаз $А_1$ и $Б_1$

6.2.1.1 Для приготовления подвижной фазы $А_1$ в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ приливают 600 — 700 $см^3$ деионизованной воды, добавляют 5,0 $см^3$ муравьиной кислоты, перемешивают и доводят до метки деионизированной водой. Раствор дегазируют на ультразвуковой бане в течение 5 мин.

6.2.1.2 Для приготовления подвижной фазы $Б_1$ в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ приливают 500 $см^3$ метанола, добавляют 5 $см^3$ муравьиной кислоты, перемешивают и доводят до метки ацетонитрилом. Раствор дегазируют на ультразвуковой бане в течение 5 мин.

6.2.2 Приготовление подвижных фаз $А_2$ и $Б_2$

6.2.2.1 Для приготовления подвижной фазы $А_2$ в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ приливают 600 — 700 $см^3$ деионизованной воды, добавляют 1,925 г уксуснокислого аммония и 1,0 $см^3$ уксусной кислоты, перемешивают и доводят до метки деионизированной водой. Раствор дегазируют на ультразвуковой бане в течение 5 мин.

6.2.2.2 В качестве подвижной фазы $Б_2$ используют ацетонитрил. Перед использованием ацетонитрил дегазируют на ультразвуковой бане в течение 5 мин.

6.2.3 Срок годности подвижных фаз при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.3 Приготовление градуировочных растворов

6.3.1 Приготовление исходных стандартных растворов антгельминтиков C_0

Для приготовления исходных растворов C_0 концентрацией 200 мкг/см^3 для каждого антгельминтика рассчитывают необходимую массу анализируемой пробы *i*-го вещества m_i, мг, эквивалентную 5,0 мг анализируемого соединения, исходя из содержания основного вещества, по формуле

$$m_i = 5 \cdot \frac{M_0 \cdot 100}{M_i \cdot P_i}, \quad (1)$$

где M_0 — молекулярная масса производного антгельминтика (для анализируемых соединений, растворы которых готовят из их производных, например, солей);

M_i — молекулярная масса анализируемого соединения;

P_i — степень чистоты вещества, %.

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 вносят рассчитанную массу анализируемой пробы вещества для градуировки. Добавляют 20 см^3 этилового спирта, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на 15 мин, полученный раствор доводят до метки этиловым спиртом.

Срок годности растворов при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С — не более двух лет.

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

6.3.2 Приготовление рабочего раствора C_1

Для приготовления рабочего раствора C_1 переносят по 0,1 см^3 каждого исходного раствора антгельминтика C_0 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого антгельминтика в растворе C_1 составляет 2 мкг/см^3.

6.3.3 Приготовление рабочего раствора C_2

Для приготовления рабочего раствора C_2 переносят 5,0 см^3 раствора C_1 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого антгельминтика в растворе C_2 составляет 1 мкг/см^3.

6.3.4 Приготовление рабочего раствора C_3

Для приготовления рабочего раствора C_3 переносят 2,0 см^{3}раствора C_2 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого антгельминтика в растворе C_3 составляет 0,2 мкг/см^3.

6.3.5 Приготовление рабочего раствора C_4

Для приготовления рабочего раствора C_4 переносят 1,0 см^3 раствора C_2 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого антгельминтика в растворе C_4 составляет 0,1 мкг/см^3.

6.3.6 Приготовление рабочего раствора C_5

Для приготовления рабочего раствора C_5 переносят 1,0 см^3 раствора C_3 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого антгельминтика в растворе C_5 составляет 0,02 мкг/см^3.

Срок годности растворов C_1 – C_5 при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.3.7 Приготовление исходных растворов внутренних стандартов D_0 антгельминтиков

Для приготовления исходных растворов D_0 концентрацией 200 мкг/см^3 для каждого внутреннего стандарта антгельминтика рассчитывают необходимую массу анализируемой пробы *i*-го вещества, эквивалентную 5 мг чистого вещества внутреннего стандарта, по формуле (1).

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 вносят рассчитанную массу анализируемой пробы внутреннего стандарта антгельминтика. Добавляют 20 см^3 этилового спирта, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на 15 мин. Доводят полученный раствор до метки этиловым спиртом.

Срок годности растворов при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С — не более двух лет.

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

6.3.8 Приготовление рабочего раствора внутренних стандартов D_1 антгельминтиков

Для приготовления рабочего раствора D_1 переносят по 0,05 см^3 растворов D_0 каждого внутреннего стандарта антгельминтика в мерную пробирку вместимостью 10 см^3, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого внутреннего стандарта антгельминтика в растворе D_1 составляет 1,0 мкг/см^3.

6.3.9 Приготовление рабочего раствора внутренних стандартов D_2 антгельминтиков

Для приготовления рабочего раствора D_2 переносят 1,0 см^3 раствора D_1 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого внутреннего стандарта антгельминтика в растворе D_2 составляет 100 нг/см^3.

Срок годности растворовы D_1 и D_2 при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 3 мес.

6.3.10 Приготовление матричных градуировочных растворов G_1 — G_7 антгельминтиков

6.3.10.1 Приготовление матричного градуировочного раствора G1

Для приготовления матричного раствора G_1 приливают 0,20 см^3 раствора C_1 и 0,02 см^3 раствора D_2 к остатку после упаривания чистой пробы, полученной и проанализированной ранее в соответствии с требованиями раздела 7 (для каждого типа матриц готовят индивидуальные градуировочные растворы). Затем приливают 0,18 см^3 подвижной фазы A_1, тщательно перемешивают в шейкере и фильтруют через мембранный фильтр в виалу.

Массовая концентрация каждого антгельминтика в растворе G_1 составляет 1000 нг/см^3.

6.3.10.2 Приготовление матричных градуировочных растворов G_2 –G_7

Растворы G_2 — G_7 готовят как раствор G_1 по 6.3.10.1, при этом для приготовления раствора:

- G_2 приливают 0,10 см^3 раствора C_1, 0,02 см^3 раствора D_2, затем — 0,28 см^3 подвижной фазы A_1;
- G_3 приливают 0,05 см^3 раствора C_1 и 0,05 см^3 раствора D_2, затем — 0,90 см^3 подвижной фазы A_1;
- G_4 приливают 0,05 см^3 раствора C_2 и 0,05 см^3 раствора D_2, затем — 0,90 см^3 подвижной фазы A_1;
- G_5 приливают 0,05 см^3 раствора C_3 и 0,05 см^3 раствора D_2, затем — 0,90 см^3 подвижной фазы A_1;
- G_6 приливают 0,05 см^3 раствора C_4 и 0,05 см^3 раствора D_2, затем — 0,90 см^3 подвижной фазы A_1;
- G_7 приливают 0,05 см^3 раствора C_5 и 0,05 см^3 раствора D_2, затем — 0,90 см^3 подвижной фазы A_1.

Массовая концентрация каждого антгельминтика составляет: в растворе G_2 — 500 нг/см^3, в растворе G_3 — 100 нг/см^3, в растворе G_4 — 50 нг/см^3, в растворе G_5 — 10 нг/см^3, в растворе G_6 — 5 нг/см^3, в растворе G_7 — 1 нг/см^3.

Срок годности растворов G_1 – G_7 в холодильнике при температуре от 2 °С до 4 °С — не более семи суток.

6.4 Построение градуировочной характеристики

6.4.1 Градуировочную характеристику строят при помощи матричной градуировки. Для этого проводят обработку заведомо «чистых» проб, приготовленных и проанализированных ранее, не содержащих антгельминтиков в соответствии с требованиями раздела 7, в зависимости от типа исследуемой матрицы.

6.4.2 Для получения градуировочных данных используют не менее трех уровней концентраций матричных градуировочных растворов. Определяемое в анализируемой пробе содержание антгельминтиков должно находиться в диапазоне концентраций градуировочной характеристики.

6.4.3 При установлении градуировочной характеристики в инжектор хроматографа вводят не менее двух раз по 20 мм^3 матричных градуировочных растворов G_1 — G_7 (6.3.10) различных уровней концентраций в условиях, указанных в 6.5.

6.4.4 Для проверки приемлемости результатов измерений рассчитывают значение относительной повторяемости $r_{отн}$, %, параллельных определений для каждого градуировочного раствора — разности между результатами параллельных определений, отнесенные к их среднему значению по формуле

$$r_i = \frac{\left|X_{n1} - X_{n2}\right|}{\overline{X}_n} 100, \qquad (2)$$

где X_{n1} и X_{n2} — параллельные определения при получении n-го результата для матричного градуировочного раствора, мкг/кг;

$\overline{X}_n$ — среднеарифметическое значение X_{n1} и X_{n2} (n-й результат анализа), мкг/кг.

Значения r_n (n = 1, 2, ..) не должны превышать пределов повторяемости $r_{отн}$ установленных при P = 0,95 и приведенных в таблице 1.

Таблица 1 — Пределы относительной повторяемости $r_{отн}$ и показатель повторяемости для выбранных диапазонов измерений

Диапазон измерений содержания антгельмин-тиков, мкг/кг (нг/г)	Предел повторяемости $r_{отн}$, %, при $P = 0,95$, $n = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %
От 1,0 до 10,0 включ.	25	9
Св. 10,0 » 100,0 »	20	7
» 100,0 » 1000,0 »	15	5

6.4.5 При помощи компьютерной системы обработки данных строят градуировочную характеристику зависимости концентрации от площади пика анализируемого соединения методом внутреннего стандарта. При построении градуировочной зависимости используют линейную или квадратическую функцию.

6.4.6 Вычисление площади пика проводят для каждого дочернего иона анализируемых соединений. Допускается проведение количественных измерений по одному, наиболее интенсивному, дочернему иону. Для подтверждения наличия антгельминтиков рассчитывают отношения площади пика двух дочерних ионов для каждого соединения в градуировочном растворе.

6.4.7 При построении градуировочной характеристики внутренние стандарты для антгельминтиков выбирают в соответствии с таблицей 2. Расчеты коэффициентов градуировочной характеристики выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

Таблица 2 — Соответствие между анализируемыми соединениями и внутренними стандартами

Наименование антгельминтика	Наименование внутреннего стандарта антгельминтика
Левамизол Альбендазола аминосульфон	Тетрамизол — *D*5
Пирантел Гидрокситиабендазол Тиабендазол Морантел	Тиабендазол — 13*C*6
Оксибендазола амин	Оксибендазола амин — *D*7
Гидроксимебендазол Аминомебендазол	Гидроксимебендазол — *D*3
Альбендазола сульфоксид	Альбендазола сульфоксид — *D*3
Камбендазол	Камбендазол — *D*7
Оксибендазол	Оксибендазол — *D*7
Альбендазола сульфон	Альбендазола сульфон — *D*3
Аминофлюбендазол	Метил-карбамат
Оксфендазол	Оксфендазол — *D*3
Оксфендазола сульфон	Фенбендазола сульфон — *D*3
Парбендазол Альбендазол	Альбендазол — *D*3
Мебендазол	Мебендазол — *D*3
Флюбендазол	Флюбендазол — *D*3
Фенбендазол	Фенбендазол — *D*3
Празиквантел Фебантел Нетобимин	Фебантел — *D*6
Клорсулон Нитроксинил Аминотриклабендазол Кетотриклабендазол Триклабендазола сульфоксид Триклабендазола сульфон Оксиклозанид Триклабендазол Никлозамид Клозантел Салантел Рафоксанид	Триклабендазол — *D*3

6.4.8 Время удерживания анализируемых веществ определяют при анализе градуировочных растворов. Значения абсолютного времени удерживания анализируемых соединений в предложенных хроматографических условиях приведены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 — Параметры воздействия на ионы в режиме *MRM* и условиях электрораспыления с регистрацией положительных ионов

Наименование антгельминтика	Время удерживания, мин	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z*
Левамизол	12,6	205,2	178,1/123,2
Тетрамизол — *D5**	12,6	210,1	183,0
Альбендазола аминосульфон	12,7	240,1	198,1/133,2
Пирантел	12,9	207,1	150,2/136,2
Гидрокситиабендазол	13,0	218,0	191/147,1
Тиабендазол	13,4	202,1	175,1/131,2
Тиабендазол — 13*C6**	13,4	208,1	181,1
Морантел	13,8	221,1	164,2/123,1
Аминомебендазол	15,4	238,2	105,1/77,0
Оксибендазола амин	15,5	192,2	150,2/108,1
Оксибендазола амин — *D7**	15,5	199,1	151,2
Гидроксимебендазол	15,7	298,2	220,2/79,2
Гидроксимебендазол — *D3**	15,7	301,2	220,2
Аминофлюбендазол	15,9	256,2	123,1/95,1
Альбендазола сульфоксид	16,1	282,2	240,1/208,1
Альбендазола сульфоксид — *D3**	16,1	285,1	243,1
Камбендазол	16,9	303,0	261,1/217,1
Камбендазол — *D7**	16,9	310,0	262,1
Оксибендазол	16,9	250,2	218,1/176,0
Оксибендазол — *D7**	16,9	257,1	225,2
Альбендазола сульфон	17,4	298,1	224,1/104,1
Альбендазола сульфон — *D3**	17,4	301,2	224,1
Метил-карбамат*	18,2	308,2	240,1/208,1
Оксфендазол	18,4	316,2	191,0/159,2
Оксфендазол — *D3**	18,4	319,1	194,1

Окончание таблицы 3

Наименование антгельминтика	Время удерживания, мин	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z*
Оксфендазола сульфон	19,5	332,2	300,2/159,2
Фенбендазола сульфон — *D*3*	19,5	335,1	300,1
Парбендазол	19,7	248,2	216,1/173,2
Альбендазол	20,1	266,1	234,2/191,1
Альбендазол — *D*3*	20,1	269.2	234,1
Мебендазол	21,0	296,1	264,1/105,1
Мебендазол — *D*3*	21,0	299,1	264,1
Флюбендазол	21,9	314,1	282,1/123,1
Флюбендазол — *D*3*	21,9	317,1	282,1
Фенбендазол	23,2	300,0	268,1/159,2
Фенбендазол — *D*3*	23,2	303,0	268,1
Празиквантел	24,9	313,2	203,1/83,2
Фебантел	26,7	447,1	415,1/383,0
Фебантел — *D*6*	26,7	453,1	383,1
Нетобимин	27,7	421,1	389,1/213,2
* Внутренний стандарт.			

Таблица 4 — Параметры воздействия на ионы в режиме *MRM* и условиях электрораспыления с регистрацией отрицательных (-) ионов

Антгельминтик	Время удерживания, мин	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z*
Клорсулон	14,2	342,0/344,0	242,0/244,0
Нитроксинил	15,2	290,1	162,9/126,8
Нитроксинил	15,2	290,1	162,9/126,8
Аминотриклабендазол	15,8	327,1	182,0/146,0
Кетотриклабендазол	16,4	327,1	182,0/146,0
Триклабендазола сульфоксид	16,8	373,1/375,1	358/360
Триклабендазола сульфон	17,1	391/389	312,1/309,9
Оксиклозанид	17,7	194,9/196,9	158,8/160,8
Триклабендазол	17,8	357,1/359,1	342,0/344,0
Триклабендазол — *D*3*	17,8	362,1	344,0/197,0
Никлозамид	17,8	325,0/327,0	289,0/291,0
Клозантел	19,9	661,1/663,1	315,0/317,0
Салантел	20,8	636,0	344,9/264,0
Рафоксанид	21,6	623,8	344,9/126,9
* Внутренний стандарт.			

Относительное отклонение времени удерживания антгельминтиков в анализируемых пробах от градуировочных данных не должно превышать 2,5 %.

6.4.9 Контроль составляющей расширенной неопределенности, обусловленной стабильностью градуировочных характеристик, выполняют в ходе определения относительных коэффициентов отклика на соединения в градуировочной смеси (построения градуировочных характеристик) при помощи программы обработки данных. Градуировочную характеристику считают приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение коэффициента корреляции (коэффициент регрессии) каждого аналита ≥ 0,98, а значения отклонения градуировки для каждой точки градуировочной характеристики находятся в диапазоне 80 % — 120 %.

6.4.10 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят после анализа каждых 20 исследуемых образцов однократным измерением двух градуировочных растворов G_3 и G_5. Градуировочная характеристика считается стабильной, если рассчитанные значения отклонения градуировки для аналитов градуировочных растворов G_3 и G_5 находятся в диапазоне 75 % — 125 %. В противном случае проводят повторный анализ градуировочных растворов, построение градуировочной характеристики и анализ испытуемых проб.

6.5 Условия хроматографических измерений

6.5.1 Хроматомасс-спектрометр включают в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают параметры, рекомендуемые изготовителем колонок. Например, для колонки диаметром 2 мм, длиной 150 мм, с обращенно-фазным сорбентом С18 с размером частиц 5 мкм, применяют следующие хроматографические условия:

- температура колонки — 40 °С;

- скорость потока подвижной фазы — 0,25 $см^3$/мин;
- объем вводимой пробы — 20 $мм^3$.

6.5.2 Разделение проводят в режиме градиентного элюирования (приготовление растворов элюентов в соответствии 6.2.1).

При регистрации положительных ионов и применении хроматографических условий по 6.5.1 применяют следующие условия элюирования: в начальный момент и до 2,0 мин элюирование в 100 %-ной подвижной фазе A_1; с 2,0 до 26,0 мин переход к элюированию в 100 %-ной подвижной фазе B_1; с 26,0 по 28,0 мин элюирование в 100 %-ной подвижной фазе B_1; с 28,0 по 28,1 мин переход к элюированию в 100 %-ной фазе A_1; с 28,1 по 37,0 мин уравновешивание хроматографической колонки в 100 %-ной подвижной фазе A_1.

6.5.3 При регистрации отрицательных ионов и применении хроматографических условий по 6.5.1 устанавливают следующие условия элюирования: в начальный момент и до 2,0 мин элюирование в 100 %-ной подвижной фазе A_2; с 2,0 до 16,0 мин переход к элюированию в 100 %-ной подвижной фазе B_2; с 16,0 до 24,0 мин элюирование в 100 %-ной подвижной фазе B_2; с 24,0 до 24,1 мин переход к элюированию в 100 %-ной подвижной фазе A_2; с 24,1 до 34,0 мин уравновешивание хроматографической колонки в 100 %-ной подвижной фазе A_2.

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб

7.1.1 Отбор проб мяса и мясных продуктов — по ГОСТ 7269.

7.1.2 Отбор проб мяса птицы, пищевых субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы — по ГОСТ 31467.

7.1.3 Отбор проб молока и молочных продуктов — по ГОСТ 26809.

7.1.4 Отбор проб яиц, яичного меланжа и яичного порошка — по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

7.1.5 Отобранные пробы при отсутствии возможности испытания в день отбора замораживают и хранят при температуре минус 25 °С до проведения испытания, но не более 90 сут.

7.2 Подготовка проб

7.2.1 Подготовка проб мяса, мясных продуктов, мяса и субпродуктов птицы

Мышечную ткань предварительно очищают от грубой соединительной ткани. 100 г пробы измельчают на гомогенизаторе и взвешивают 1,0 г гомогенизированной ткани в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 $см^3$.

Пипеточным дозатором в пробирку вносят 50 $мм^3$ рабочего раствора внутренних стандартов D_2, осторожно приливают 3 $см^3$ ацетонитрила, помещают пробирку в шейкер для перемешивания на 15 мин. Затем центрифугируют при 4000 об/мин в течение 15 мин при температуре 10 °С. Пипеточным дозатором переносят надосадочную жидкость в новую полипропиленовую пробирку, обезжиривают путем добавления 3 $см^3$ гексана и перемешивают. Центрифугируют при 2000 об/мин в течение 5 мин при температуре 20 °С, верхний слой гексана удаляют. Затем помещают пробирку в термостатируемый нагревательный модуль с системой отдувки растворителей и концентрируют в токе азота при температуре 50 °С до 0,05 — 0,10 $см^3$.

К полученному остатку приливают 2 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают в шейкере в течение 5 с и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин при температуре 20 °С. Полученный экстракт очищают методом твердофазной экстракции (ТФЭ) на картридже. Перед нанесением экстракта на картридж последовательно кондиционируют сорбент 2 $см^3$ метанола и 2 $см^3$ деионизированной воды. Затем пропускают через картридж полученный экстракт. Промывают картридж 2 $см^3$ деионизованной воды, сушат в вакууме водоструйного насоса в течение 10 мин и элюируют анализируемые соединения с помощью 3 $см^3$ метанола в новую полипропиленовую пробирку. Пробирку помещают в термостатируемый нагревательный модуль с системой отдувки растворителей и упаривают в токе воздуха при температуре 50 °С до 0,05 — 0,10 $см^3$.

К полученному остатку приливают 0,9 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают в шейкере в течение 5 с, переливают экстракт в микроцентрифужную полипропиленовую пробирку и центрифугируют при 15000 об/мин в течение 10 мин при температуре 20 °С.

Центрифугат фильтруют через мембранный фильтр в виалу для автосамплера жидкостного хроматографа. Полученный раствор используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

7.2.2 Подготовка проб яичного порошка

Отобранную пробу яичного порошка перед анализом тщательно перемешивают и взвешивают 1,0 г в полипропиленовой пробирке. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см^3 рабочего раствора внутренних стандартов D_2. Далее обработку пробы и подготовку к хроматографированию проводят по 7.2.1.

7.2.3 Обработка проб яиц и меланжа

Яйца отделяют от скорлупы и перемешивают на гомогенизаторе, меланж тщательно перемешивают. Взвешивают 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см^3 рабочего раствора внутренних стандартов D_2. Далее обработку проб и подготовку к хроматографированию проводят по 7.2.1.

7.2.4 Подготовка проб молока и молочных продуктов

Отобранную пробу перед анализом тщательно перемешивают.

Взвешивают 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см^3 рабочего раствора внутренних стандартов D_2. Далее обработку проб и подготовку к хроматографированию проводят по 7.2.1. Для проб с массовой долей жира более 20 % процедуру обезжиривания гексаном проводят дважды.

8 Порядок выполнения измерений

8.1 ВЭЖХ-МС/МС анализ

8.1.1 Для определения остаточного содержания антгельминтиков проводят ВЭЖХ-МС/МС анализ в условиях, указанных в 6.5.

8.1.2 ВЭЖХ-МС/МС анализ следует выполнять в виде серии измерений, включающей следующие образцы:

- образец подвижной фазы A_1 (для уравновешивания хроматографической системы);
- образец, полученный в условиях подготовки проб, где вместо матрицы использовался 1,0 см^3 деионизованной воды;
- образец, не содержащий антгельминтиков, приготовленный и проанализированный ранее в соответствии с требованиями раздела 7, в зависимости от типа исследуемой матрицы;
- градуировочные растворы;
- анализируемые пробы;
- образцы контроля стабильности градуировки.

Результаты измерений округляют до первого десятичного знака и выражают в микрограммах на килограмм.

8.1.3 Время удерживания антгельминтиков определяют при анализе градуировочных растворов.

8.2 Контроль качества измерений

8.2.1 Каждая серия измерений включает в себя несколько степеней подтверждения качества измерений.

8.2.2 При анализе каждой партии проб проводят обработку «чистой пробы» в соответствии с 7.2 в зависимости от типа исследуемой матрицы. Наличие пиков, значения времени, удерживания которых совпадают со значениями времени удерживания пиков определяемых компонентов, указывает на наличие контаминации анализируемых проб при их подготовке.

8.2.3 Для исключения возможной контаминации реагентов, используемых в процессе подготовки проб, анализируемую пробу заменяют 1,0 см^3 деионизованной воды.

9 Обработка результатов измерений

9.1 В соответствии с данными, полученными при анализе градуировочных растворов, проводят количественную обработку хроматограмм с использованием программного обеспечения. Метод обработки хроматограмм — внутренний стандарт.

9.2 Расчеты содержания анализируемых веществ X_i, мкг/кг, выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме в соответствии с формулой

$$X_i = \frac{X_{ст} \cdot S_i}{S_{ст}}, \quad (3)$$

где $X_{ст}$ — концентрация внутреннего стандарта, мкг/кг;

S_i — площадь пика антгельминтика,

$S_{ст}$ — площадь пика внутреннего стандарта антгельминтика.

9.3 Вычисление площади пика проводят на двух дочерних ионах (согласно таблицам 3 и 4) для каждого антгельминтика. Отклонения относительных ионных интенсивностей ионов в анализируемой пробе от относительных ионных интенсивностей ионов, полученных при анализе градуировочных растворов, не должны превышать значений, указанных в таблице 5.

Таблица 5 — Допустимые отклонения относительных ионных интенсивностей

Относительная ионная интенсивность (% от основного пика)	Максимально допустимые отклонения для ВЭЖХ-МС/МС детектирования, %
Св. 50	± 20
» 20 до 50 включ.	± 25
» 10 » 20 »	± 30
Менее 10 »	± 50

9.4 Результаты измерений округляют до первого десятичного знака и выражают в микрограммах на килограмм.

9.5 За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r, \quad (4)$$

где X_1, X_2 – результаты двух параллельных определений содержания антгельминтиков, мкг/кг;

$r_{отн}$ – значение предела повторяемости, % (табл.1).

9.6 Если условие (4) не выполняется, проводят еще два определения. За окончательный результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие

$$\frac{4 \cdot |X_{max} - X_{min}| \cdot 100}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)} \le CR_{0,95} \quad (5)$$

где X_{max}, X_{min} – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений содержания антгельминтиков, мкг/кг;

$CR_{0,95}$ – значение критического диапазона для уровня вероятности P = 0,95 и n — результатов определений.

$$CR_{0,95} = f(n) \cdot \sigma_r \quad (6)$$

Для n = 4

$$CR_{0,95} = 3,6 \cdot \sigma_r \quad (7)$$

где σ_r – показатель повторяемости, %, в соответствии с таблицей 1.

Окончание таблицы 6

9.7 Если условие (5) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют измерения.

10 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений содержания антгельминтиков с расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений при коэффициенте охвата k = 2, указанной в таблице 6.

Таблица 6 — Значения относительной расширенной неопределенности U_i, %, при коэффициенте охвата k = 2 в диапазонах измерений содержания антгельминтиков, мкг/кг.

Наименование антгельминтика	Диапазон измерений содержания антгельминтиков, мкг/кг		
	От 1,0 до 10 включ.	Св. 10 до 100 включ.	Св. 100 до 1000 включ.
Левамизол	60	43	30
Альбендазола аминосульфон	54	27	47
Гидрокситиабендазол	43	25	25
Пирантел	42	25	25
Аминомебендазол	35	25	25
Тиабендазол	38	25	25
Альбендазола сульфон	60	50	41
Оксибендазол	58	55	42
Альбендазол	51	30	25
Альбендазола сульфоксид	57	54	35
Аминофлюбендазол	75	60	40
Оксфендазол	49	48	45
Мебендазол	50	33	32
Флюбендазол	60	50	40
Фенбендазол	70	50	50
Гидроксимебендазол	60	51	30
Парбендазол	70	62	46
Камбендазол	54	27	47
Морантел	56	26	23
Нетобимин	60	28	25
Празиквантел	43	25	25

Наименование антгельминтика	Диапазон измерений содержания антгельминтиков, мкг/кг		
	От 1,0 до 10 включ.	Св. 10 до 100 включ.	Св. 100 до 1000 включ.
Оксибендазола амин	42	25	25
Оксфендазола сульфон	35	25	25
Фебантел	38	25	25
Триклабендазола сульфон	70	50	41
Триклабендазола сульфоксид	61	55	35
Никлозамид	51	30	25
Оксиклозанид	71	40	40
Триклабендазол	60	52	42
Клозантел	55	46	28
Салантел	65	55	46
Кетотриклабендазол	60	50	42
Клорсулон	70	55	50
Нитроксинил	51	30	25
Рафоксанид	49	48	45

Примечание — Значения относительной расширенной неопределенности, указанные в таблице 6, соответствуют границам относительной погрешности результатов измерений при $P = 0,95$.

11 Оформление результатов измерений

Содержание *i*-го антгельминтика *M*, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$M = \bar{X}_i \pm 0,01 \cdot U_i \cdot \overline{X}_i , \quad (8)$$

где $\overline{X}_i$ – среднеарифметическое значение двух параллельных определений содержания *i*-го аналита в анализируемой пробе, мкг/кг,

U_i – значение относительной расширенной неопределенности содержания *i*-го аналита антгельминтика для соответствующего диапазона измерений, % (см. таблицу 6).

12 Контроль качества результатов измерений

12.1 Контроль полноты извлечения внутренних стандартов антгельминтиков

12.1.1 Контроль извлечения внутренних стандартов антгельминтиков выполняют в ходе каждого измерения (получения результата количественного химического анализа при соблюдении требований настоящего стандарта).

12.1.2 Рассчитанные программным обеспечением значения извлечения внутренних стандартов должны находиться в диапазоне от 40 % до 130 %. Если рассчитанное значение извлечения ниже или

выше указанного диапазона, то результаты измерения содержания антгельминтика не принимают за окончательный результат. Проводят повторные исследования анализируемых проб.

12.2 Контроль неопределенности результатов измерений

При соблюдении требований настоящего стандарта рекомендуется в ходе анализа каждой серии проб проводить анализ образцов для контроля с установленным значением содержания *i*-го антгельминтика с использованием стандартной процедуры подготовки проб (см. 7.2).

Результаты измерений признают удовлетворительными при выполнении следующего неравенства

$$\left|\overline{X}_i - X\right| \le \overline{X}_i \, U_i \cdot 0{,}01, \qquad (9)$$

где $\overline{X}_i$ — среднеарифметическое значение результатов параллельных определений массовой доли *i*-го антгельминтика в образце для контроля, мкг/кг;

X — установленное значение содержания *i*-го антгельминтика в образце для контроля, мкг/кг;

U_i — значение относительной расширенной неопределенности содержания *i*-го антгельминтика для соответствующего диапазона измерений (см. таблицу 6), %.

Приложение А
(обязательное)

Контроль стабильности результатов измерений

А.1 Периодичность контроля стабильности результатов измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории.

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ ИСО 5725-6, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности рутинного анализа с изменяющимися факторами «время» и «оператор».

Применяя метод контрольных карт Шухарта, проверяют стабильность этих результатов измерений и оценивают стандартное отклонение промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами «время» и «оператор». После отбора анализируемую пробу от каждой партии подготавливают в лаборатории для анализа. Одну пробу, подвергавшуюся анализу во время смены C_1, анализирует повторно другой оператор в другую смену C_2 и результаты сравнивают. Значение стандартного отклонения промежуточной прецизионности $\sigma_{I(T,O)}$ устанавливают в лаборатории по результатам измерений за предыдущий период. Параметры контрольной карты пределов для каждого диапазона рассчитывают следующим образом:

- среднюю линию по формуле

$$d_2 \cdot \sigma_{I(T,O)} = 1{,}128 \cdot \sigma_{I(T,O)}, \quad (A.1)$$

где $\sigma_{I(T,O)}$ — среднеквадратическое отклонение промежуточной прецизионности, %;

- верхний предел действия по формуле

$$UCL_{Д} = 3{,}686 \cdot \sigma_{I(T,O)}, \quad (A.2)$$

- верхний предел предупреждения по формуле

$$UCL_{П} = 2{,}834 \cdot \sigma_{I(T,O)}. \quad (A.3)$$

Расхождение w рассчитывают по формуле

$$w = \frac{2 \cdot |C_1 - C_2| \cdot 100}{(C_1 + C_2)}. \quad (A.4)$$

Расхождение w наносят на карту в течение контролируемого периода.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30. После этого проводят оценку стандартного отклонения промежуточной прецизионности ($S_{I(T,O)}$) результатов по формуле

$$S_{I(T,O)} = \frac{\sum_{i=1}^{k} w_i}{m_k \cdot d_2}, \quad (A.5)$$

где m_k –число измерений.

Полученное значение $S_{I(T,O)}$ используют для последующего контроля стабильности результатов измерений

УДК 637,638:614.3:006.354

МКС 67.050
67.100
67.120
67.180

Ключевые слова: продукты пищевые, сырье продовольственное, антгельминтики, высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

Подписано в печать 03.03.2015. Формат 60х84⅛.
Усл. печ. л. 2,79. Тираж 31 экз. Зак. 1014

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»,
123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru