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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32014— 2012

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

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

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

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 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), Федеральным государственным учреждением «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» (ФГУ «ЦНМВЛ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 3 декабря 2012 г. № 54-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 июня 2013 г. № 239-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2014 года

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 53992—2010

6 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, 2013

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 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, реактивы . . . 2
5 Требования безопасности . . . 4
6 Порядок подготовки к проведению измерений . . . 4
6.1 Отбор проб . . . 4
6.2 Подготовка хромато-масс-спектрометрической системы к выполнению измерений . . . 5
6.3 Приготовление растворов . . . 5
6.4 Приготовление градуировочных растворов . . . 6
6.5 Построение градуировочной характеристики . . . 7
6.6 Хроматографические условия измерений . . . 7
6.7 Подготовка лабораторной посуды и реактивов . . . 8
7 Порядок выполнения измерений . . . 8
7.1 Обработка проб органов, тканей животных и креветок . . . 8
7.2 Обработка проб меда . . . 9
7.3 Обработка проб яиц, молока и молочных продуктов . . . 9
7.4 ВЭЖХ-МС/МС анализ . . . 10
7.5 Обработка результатов хроматографического анализа . . . 10
8 Метрологические характеристики . . . 10
9 Оформление результатов измерений . . . 11
10 Контроль качества результатов измерений . . . 11
10.1 Контроль полноты извлечения внутреннего стандарта нитрофуранов и их метаболитов . . . 11
10.2 Контроль неопределенности результатов измерений . . . 11
Приложение А (справочное) Молекулярные структуры нитрофуранов и их метаболитов . . . 12
Приложение Б (обязательное) Контроль стабильности результатов измерений . . . 13
Библиография . . . 14

МКС 67.050, 67.100, 67.120

Поправка к Изменению № 1 ГОСТ 32014—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (см. ИУС № 2—2017)

В каком месте	Напечатано	Должно быть
С.59	**За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: BY, KG, RU, TJ, KZ [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166)004]**	**За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: BY, KG, RU, TJ, KZ, GE, UZ [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166)004]**

(ИУС № 6 2017 г.)

МКС 67.050, 67.100, 67.120

Поправка к ГОСТ 32014—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Подраздел 6.2	- температура окружающего воздуха . . . от 20 ºС до 25 ºС;	- температура окружающего воздуха . . . от 15 ºС до 30 ºС;
	- напряжение в электросети . . . (220 ± 20) В;	—
	- частота тока в электросети . . . от 49 до 51 Гц;	—
	- относительная влажность воздуха . . . от 40 % до 80 %.	- относительная влажность воздуха . . . от 20 % до 80 %.

(ИУС № 7 2017 г.)

Поправка к ГОСТ 32014—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов 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
Подпункт 7.3.1.2. Последний абзац	—	Сухие молочные продукты восстанавливают по ГОСТ 29245 (пункт 3.4).

(ИУС № 10 2018 г.)

МКС 67.050, 67.100, 67.120

Поправка к ГОСТ 32014—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 4.1, четвертое перечисление	пределом взвешивания 200	пределом взвешивания 220

(ИУС № 2 2020 г.)

67 ПРОИЗВОДСТВО ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

МКС 67.050
67.100
67.120

Поправка к ГОСТ 32014—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	Минэкономики Республики Армения

(ИУС № 3 2020 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

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

Food products, food raw materials. Method of determination of the nitrofuran mytobolites by high performance liquid chromatography — mass spectrometry (HPLC-MS)

Дата введения — 2014—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко, молочные продукты, яйца, яичный порошок, мясо и мясные продукты, включая мясо и продукты из мяса птицы, мед, креветки и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов в диапазоне измерений от 1,0 до 1000,0 мкг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

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

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

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

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

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

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5848—73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 5962—67 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6552—80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

ГОСТ 7631—2008 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей

ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначения чистоты

ГОСТ 14261—77 Кислота соляная особой чистоты. Технические условия

ГОСТ 19792—2001 Мед натуральный. Технические условия

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

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

Издание официальное

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

ГОСТ 31654—2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия

ГОСТ 31720—2012 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы отбора проб и органолептического анализа

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

3.1 Определение остаточных количеств метаболитов нитрофуранов (приложение А), образующих в организме стабильные связи с белками, проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).

3.2 Количественное определение остаточного содержания метаболитов нитрофуранов проводят методом внутреннего стандарта по площади пика идентифицированных соединений при помощи градуировочной кривой.

3.3 Детектирование анализируемых проб проводят в режиме регистрации выбранных реакций.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, реактивы

4.1 При определении содержания метаболитов нитрофуранов применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование и материалы:

- масс-спектрометр с диапазоном измерения от 100 до 500 атомных единиц массы (а. е. м.), массовым разрешением не менее 500, точностью измерения массы не ниже 0,2 а. е. м., с режимом получения и анализа фрагментных ионов (режим МС/МС);
- систему высокоэффективную жидкостную хроматографическую, состоящую из бинарного насоса со смесителем, термостата хроматографической колонки, обеспечивающего температуру нагрева до 50 °С;
- компьютер с установленным программным обеспечением для управления масс-спектрометром и обработки результатов масс-спектрометрических измерений;
- весы лабораторные I или II класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 и 500 г, с ценой деления шкалы 0,1 и 1,0 мг соответственно по ГОСТ 24104;
- pH-метр с набором электродов, с диапазоном измерений от 0 до 14 ед. pH и с пределами абсолютной погрешности измерений ±0,01 pH;
- пипетки одноканальные переменного объема 10—100 мм^3, 40—200 мм^3, 200—1000 мм^3, 1—5 см^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования по гексану, метанолу и этилацетату не более 2 %;
- модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 40 °С;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- встряхиватель 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 ротора не менее 10000 об/с и диапазоном температур охлаждения 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;

- ротационный испаритель со скоростью вращения от 20 до 280 об/мин и температурным диапазоном нагревательной бани от 30 °С до 100 °С;
- колонку хроматографическую обращенно-фазную длиной не менее 150 мм с диаметром частиц сорбента не более 3,5 мкм;
- устройство вакуумное для твердофазной экстракции;
- картридж для твердофазной экстракции объемом не менее 12 $см^3$, заполненный обращенно-фазным сорбентом с диаметром частиц не более 50 мкм;
- виалы (флаконы) полипропиленовые вместимостью 15 и 50 $см^3$ с герметично закрывающимися пластмассовыми крышками;
- фильтры мембранные с размером пор не более 0,45 мкм;
- виалы (флаконы) стеклянные вместимостью 2 и 4 $см^3$ с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- вкладыши стеклянные для 2 $см^3$ флаконов на 50 $мм^3$;
- пробирки мерные стеклянные П-1-5-0,1ХС, П-2-10-14/23 по ГОСТ 1770;
- колбы круглодонные К-1-100-14/23 ТС по ГОСТ 25336;
- пипетки стеклянные градуированные по ГОСТ 29227;
- колбы мерные стеклянные 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770;
- цилиндры мерные стеклянные 1-25 (100, 500)-1 по ГОСТ 1770;
- бумагу универсальную индикаторную для определения pH;
- камеру лабораторную морозильную с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от минус 18 °С до минус 24 °С.

Допускается использование других средств измерений, оборудования и материалов с метрологическими и техническими характеристиками не ниже указанных.

4.2 При определении содержания метаболитов нитрофуранов применяют следующие реактивы:
- кислоту соляную по ГОСТ 14261, ос. ч.;
- метанол по ГОСТ 6995, х. ч.;
- н-гексан, х. ч.;
- этилацетат по ГОСТ 22300, х. ч.;
- ацетон по ГОСТ 2603;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962;
- эфир диэтиловый (серный);
- метил-трет-бутиловый эфир для хроматографии;
- формиат аммония с содержанием основного вещества *не менее 99,0 %;*
- муравьиную кислоту по ГОСТ 5848, ч. д. а;
- 2-нитробензальдегид (НБА) с содержанием основного вещества 98 %;
- натрий фосфорнокислый додекагидрат;
- натрий гидроокись по ГОСТ 4328, ч. д. а.;
- ацетонитрил, ч. д. а.;
- воду деионизованную;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709.

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

4.3 Для определения содержания метаболитов нитрофуранов применяют следующие стандартные образцы:

4.3.1 Стандартные образцы метаболитов нитрофуранов:
- 3-амино-2-оксазолидинон (АОЗ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Vetranal, 33347)*;
- 3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинон (АМОЗ), с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (Witega, NF003)*;
- 1-амино-гидантоин (АГД) гидрохлорид с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF001)*;
- семикарбазид (СЕМ) гидрохлорид с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Vetranal, 33656)*;
- 3-[(2-нитрофенил) метилен]-амино-2-оксазолидинон (НФ-АОЗ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF013)*;

---

* Стандартный образец является рекомендуемым к применению. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

- 5-метилморфолино-3-[(2-нитрофенил)метилен]-3-амино-2-оксазолидинон (НФ-АМОЗ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF011)*;

- 1-[(2-нитрофенил)метилен]-амино-гидантоин (НФ-АГД) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF009)*;

- (2-нитрофенил)метилен-семикарбазид (НФ-СЕМ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF015)*.

4.3.2 Внутренние стандарты метаболитов нитрофуранов:

- d_4-3-амино-2-оксазолидинон (d_4-АОЗ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF006)*;

- d_5-3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинон (d_5-АМОЗ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Vetranal, 33881)*;

- 1,2-N^{15},C^{13}-семикарбазид (1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ) гидрохлорид с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF008)*;

- (C^{13})$_3$1-аминогидантоин) ((C^{13})$_3$-АГД) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF002)*;

- d_4-3-[(2-нитрофенил)метилен]-амино-2-оксазолидинон (НФ- d_4-АОЗ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF014)*;

- d_5-5-метилморфолино-3-[(2-нитрофенил)метилен]-3-амино-2-оксазолидинон (НФ- d_5-АМОЗ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF012)*;

- (C^{13})$_3$1-[(2-нитрофенил)метилен]-амино-гидантоин (НФ-(C^{13})$_3$-АГД) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF015)*;

- 1,2-N^{15},C^{13}-(2-нитрофенил)метилен-семикарбазид (НФ- 1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ) с содержанием основного вещества не менее 99,0 %, (Witega, NF016)*.

5 Требования безопасности

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

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

5.3 Операции по приготовлению градуировочных растворов следует проводить под тягой в вытяжном шкафу.

5.4 При проведении испытаний следует соблюдать требования ГОСТ 12.2.085 и правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением, действующие на территории государства, принявшего стандарт.

5.5 При выполнении измерений на хромато-масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.6 К выполнению измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием допускаются лица, владеющие техникой ВЭЖХ-МС/МС и изучившие инструкции по эксплуатации используемой аппаратуры.

6 Порядок подготовки к проведению измерений

6.1 Отбор проб

6.1.1 Отбор проб проводят в соответствии с порядком по отбору проб пищевой продукции с целью лабораторного контроля качества и безопасности, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

6.1.2 Отбор проб мяса и мясных продуктов, включая мясо и продукты из мяса птицы, проводят в соответствии с [1].

6.1.3 Отбор проб молока и молочных продуктов проводят в соответствии с ГОСТ 26809.

6.1.4 Отбор проб меда проводят в соответствии с ГОСТ 19792.

6.1.5 Отбор проб яиц и яичного порошка производят в соответствии с ГОСТ 31654 и ГОСТ 31720.

6.1.6 Отбор проб креветок проводят в соответствии с ГОСТ 7631.

---

* Стандартный образец является рекомендуемым к применению. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

6.2 Подготовка хромато-масс-спектрометрической системы к выполнению измерений

Подготовку хромато-масс-спектрометра к работе осуществляют в соответствии с техническим руководством по эксплуатации прибора.

При этом должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . от 20 °С до 25 °С;
- атмосферное давление . . . . . от 84 до 106 кПа;
- напряжение в электросети . . . . . (220 ± 20) В;
- частота тока в электросети. . . . . от 49 до 51 Гц;
- относительная влажность воздуха. . . . . от 40 % до 80 %.

6.3 Приготовление растворов

6.3.1 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации 0,1 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 8,7 см^3 соляной кислоты, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки этим же растворителем.

Срок хранения при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.3.2 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации 0,2 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 17,4 см^3 соляной кислоты, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки этим же растворителем.

Срок хранения при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.3.3 Приготовление раствора натрия гидроокиси молярной концентрации 2 моль/ дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 84,0 г натрия гидроокиси, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки этим же растворителем.

Срок хранения при комнатной температуре в сосуде из полимерных материалов — не более 1 мес.

6.3.4 Приготовление раствора нитробензальдегида (НБА) молярной концентрации 100 ммоль/ дм^3

В мерной пробирке вместимостью 10 см^3 растворяют 151,0 мг 2-нитробензальдегида в метаноле и доводят до метки.

Срок хранения при комнатной температуре — не более одной недели.

6.3.5 Приготовление раствора натрия фосфорнокислого додекагидрата молярной концентрации 0,3 моль/ дм^3

В мерной колбе вместимостью 100 см^3 растворяют 11,4 мг фосфата натрия додекагидрата в дистиллированной воде и доводят до метки.

Срок хранения при комнатной температуре — не более 6 мес.

6.3.6 Приготовление раствора муравьиной кислоты в смеси метил-трет-бутиловый эфир/метанол (90/10)

Готовят смесь эфир/метанол путем смешивания 90 см^3 метил-трет-бутилового эфира и 10 см^3 метанола. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 добавляют 2,7 см^3 муравьиной кислоты и доводят объем до метки смесью эфир/метанол.

Раствор используют свежеприготовленным.

6.3.7 Приготовление растворов элюентов мобильной фазы А и Б

6.3.7.1 Для приготовления раствора элюента мобильной фазы А в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 смешивают 500 см^3 метанола и 500 см^3 ацетонитрила.

Срок хранения при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.3.7.2 Для приготовления раствора элюента мобильной фазы Б в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 приливают деионизованную воду и добавляют 0,5 г формиата аммония и 0,41 см^3 муравьиной кислоты, объем доводят до метки деионизованной водой.

Срок хранения при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.3.8 Приготовление растворителя для проведения ВЭЖХ-МС/МС

Для приготовления растворителя для проведения ВЭЖХ-МС/МС анализа смешивают 15 см^3 фазы А и 85 см^3 фазы Б.

6.4 Приготовление градуировочных растворов

6.4.1 Приготовление градуировочных растворов C_0 для АОЗ, АМОЗ, СЕМ, АГД, d_4-АОЗ, d_5-АМОЗ, $(C^{13})_3$-АГД, 1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ, НФ-АОЗ, НФ-АМОЗ, НФ-СЕМ, НФ-АГД, НФ-d_4-АОЗ, НФ-d_5-АМОЗ, НФ-$(C^{13})_3$-АГД, НФ-1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ

Для приготовления градуировочных растворов на лабораторных весах взвешивают 10 мг* каждого стандарта и переносят в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$. Добавляют метанол, помещают в ультразвуковую баню на 1 мин, доводят полученный раствор до метки метанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_0 составляет 1 $мг/см^3$.

6.4.2 Приготовление градуировочных растворов C_1—C_3 для АОЗ, АМОЗ, СЕМ, АГД, d_4-АОЗ, d_5-АМОЗ, $(C^{13})_3$-АГД, 1,2-N^{15}, C^{13}-СЕМ, НФ-АОЗ, НФ-АМОЗ, НФ-СЕМ, НФ-АГД, НФ-d_4-АОЗ, НФ-d_5-АМОЗ, НФ-$(C^{13})_3$-АГД, НФ-1,2-N^{15}, C^{13}-СЕМ

Для приготовления градуировочного раствора C_1 переносят 1 $см^3$ раствора C_0 в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$, доводят до метки метанолом и тщательно перемешивают. Массовая концентрация каждого аналита в растворе C_1 составляет 100 $нг/мм^3$.

Растворы C_2 и C_3 готовят аналогичным образом, используя 100 $мм^3$ C_0 для приготовления 10 $см^3$ раствора C_2 и 1000 $мм^3$ C_2 — для 10 $см^3$ раствора C_3.

Массовая концентрация каждого аналита в растворе C_2 составляет 10 $нг/мм^3$, в растворе C_3 — 1 $нг/мм^3$.

6.4.3 Приготовление смеси нитрофенильных производных АОЗ, АМОЗ, СЕМ, АГД (НФ-смесь)

Для приготовления смеси нитрофенильных производных переносят по 1000 $мм^3$ каждого стандартного раствора C_0 (см. 6.4.1) в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$ и доводят объем до метки метанолом.

Массовая концентрация каждого аналита в полученном растворе C_5 составляет 100 $нг/см^3$.

6.4.4 Приготовление смеси АОЗ, АМОЗ, СЕМ, АГД (смеси метаболитов)

Для приготовления смеси в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$ добавляют 100 $мм^3$ раствора C_2 АОЗ, 100 $мм^3$ раствора C_2 АМОЗ, 1000 $мм^3$ раствора C_2 АГД и 300 $мм^3$ раствора C_2 АГД (см. 6.4.1) и доводят до метки метанолом.

1 $см^3$ данной смеси разбавляют метанолом в 10 раз и получают раствор C_5.

6.4.5 Приготовление раствора внутреннего стандарта

Для приготовления раствора внутреннего стандарта в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$ переносят по 100 $мм^3$ градуировочных растворов C_1 d_4-АОЗ, d_5-АМОЗ, $(C^{13})_3$-АГД, 1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ (см. 6.4.1) и доводят до метки метанолом.

Полученный раствор разбавляют в 10 раз метанолом и используют в качестве внутреннего стандарта.

Массовая концентрация каждого аналита в полученном растворе составляет 0,1 $нг/мм^3$.

6.4.6 Приготовление смеси нитрофенильных производных АОЗ, АМОЗ, АГД и СЕМ (НФ-смесь 1)

Для приготовления смеси в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$ добавляют по 1000 $мм^3$ C_0 растворов НФ-АОЗ и НФ-АМОЗ (см. 6.4.1), объем доводят до метки метанолом.

Далее при помощи последовательного разбавления готовят раствор концентрацией 0,1 $нг/мм^3$. Для этого 100 $мм^3$ полученного раствора разбавляют до 10 $см^3$ метанолом (C_2 НФ-смесь 1). 1000 $мм^3$ раствора C_2 НФ-смесь 1 вновь разбавляют до 10 $см^3$ метанолом, получая раствор C_3 НФ-смесь 1, который разбавляют в 1000 раз, получая раствор C_5 НФ-смесь 1.

6.4.7 Приготовление смеси нитрофенильных производных d_4-АОЗ, d_5-АМОЗ, $(C^{13})_3$-АГД, 1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ (НФ-смесь 2)

Для приготовления смеси нитрофенильных производных в мерную пробирку вместимостью 10 $см^3$ добавляют по 1000 $мм^3$ C_0 растворов d_4-АОЗ, d_5-АМОЗ, $(C^{13})_3$-АГД, 1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ (6.4.1), объем доводят до метки метанолом. Далее при помощи последовательного разбавления метанолом готовят раствор концентрацией 0,1 $нг/мм^3$.

---

* Массы навесок для стандартных образцов в виде гидрохлоридов СЕМ; 1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ и АГД составляют 14,86; 14,86 и 13,17 мг соответственно.

6.4.8 Приготовленные растворы хранят в морозильнике при температуре не выше минус 20 °С в течение 1,5 лет. Перед применением растворы выдерживают при комнатной температуре в темном месте не менее 30 мин.

6.5 Построение градуировочной характеристики

6.5.1 Градуировочную характеристику строят при помощи матричной градуировки. Для этого проводят обработку «чистых» проб («чистые» пробы выбирают среди проб того же вида продукции, проанализированных тем же методом ранее, и не содержащих метаболитов нитрофуранов), приготовленных и проанализированных ранее, не содержащих метаболитов нитрофуранов в соответствии с требованиями раздела 7, в зависимости от типа исследуемой матрицы. На стадии перерастворения перед введением в хроматограф в мерную пробирку вместимостью 5 $см^3$ добавляют нитрофенильную смесь метаболитов (см. 6.4.3) с таким расчетом, чтобы окончательные массовые концентрации находились в пределах от 0,1 до 500 $нг/см^3$. Затем добавляют 50 $мм^3$ смеси нитрофенильных дейтерированных производных (см. 6.4.7) и необходимое количество растворителя (см. 6.3.8), доводя объем до 1 $см^3$.

6.5.2 Для получения градуировочных данных используют не менее трех уровней концентраций матричных градуировочных растворов. Определяемые в анализируемом образце массовые концентрации метаболитов нитрофуранов должны находиться в диапазоне концентраций градуировочной характеристики.

6.5.3 При градуировке хроматографа анализируют матричные градуировочные растворы различных уровней концентраций в условиях, приведенных в 6.2, 6.6. Затем, используя программное обеспечение для сбора и обработки хроматографических данных, для метаболитов нитрофуранов устанавливают градуировочные характеристики в виде зависимостей отношения площадей хроматографических пиков соответствующего соединения к площади пика внутреннего стандарта от массовой концентрации соединения в образце.

Построение графиков допускается проводить при помощи программы обработки данных ВЭЖХ-МС/МС или при помощи программы Excel (Microsoft Office).

6.5.4 Вычисление площади пика проводят для каждого дочернего иона анализируемых соединений. Допускается проведение количественных измерений по одному, наиболее интенсивному, дочернему иону. Для подтверждения наличия метаболитов нитрофуранов рассчитывают отношения площади пика двух дочерних ионов для каждого соединения, которые должны соответствовать значениям, указанным в таблице 1.

Таблица 1 — Параметры воздействия на ионы в режиме MRM и условиях электроспрея с регистрацией положительных ионов

Метаболиты нитрофуранов	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z
2-НФ-АОЗ	236,2	134,0/104,1
2-НФ-d_4 АОЗ	240,3	134,0/149,1
2-НФ-АМОЗ	335,2	291,1/262,1
2-НФ-d_5 АМОЗ	340,3	296,2/265,2
2-НФ-АГД	249,2	134,0/104,1
2-НФ-$(C^{13})_3$-АГД	251,9	133,9/179,1
2-НФ-СЕМ	209,2	191,9/166,0
2-НФ-1,2-N^{15},C^{13}-СЕМ	212,2	168,0/195,2

6.5.5 Расчетные концентрации для обоих фрагментных ионов каждого метаболита нитрофуранов должны совпадать в пределах 20 %.

Градуировочная зависимость считается приемлемой, если рассчитанное значение квадрата коэффициента корреляции для градуировочной кривой каждого фрагментного иона каждого метаболита нитрофуранов не менее 0,98.

6.6 Хроматографические условия измерений

6.6.1 Хромато-масс-спектрометр включают и настраивают в соответствии с техническим руководством по его эксплуатации и устанавливают следующие хроматографические параметры:

- скорость потока элюента — 300 $мм^3$/мин;
- объем вводимой пробы — 10 $мм^3$.

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования (приготовление растворов элюентов согласно 6.3.7): в начальный момент — соотношение фазы А/Б по объему (80/20), с 0,0 по 8,0 мин — градиентное элюирование к 95 % фазы Б, с 8,0 по 10,0 мин — элюирование в 95 % фазы Б, с 10,0 по 10,5 мин — переход к элюированию в фазе А/Б по объему (80/20), с 10,5 по 15,0 мин — уравновешивание колонки в фазе А/Б по объему (80/20).

6.6.2 Для настройки масс-спектрометрического детектора применяют следующие параметры:

- температура источника — 120 °С;
- температура газа десольвации — 450 °С;
- скорость потока газа десольвации — 650 дм^3/ч;
- скорость потока вспомогательного газа — 80 дм^3/ч.

6.7 Подготовка лабораторной посуды и реактивов

6.7.1 Мойку и сушку посуды следует проводить 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.

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

6.7.3 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.

7 Порядок выполнения измерений

7.1 Обработка проб органов, тканей животных и креветок

7.1.1 Мышечную ткань предварительно очищают от грубой соединительной ткани и грубого хитинового покрова. 100 г мышечной ткани измельчают на гомогенизаторе и взвешивают по 1,0 г гомогенизированной ткани в полипропиленовой виале вместимостью 50 см^3.

7.1.2 Удаление несвязанных метаболитов*

В виалу с гомогенизированной тканью (см. 7.1.1) добавляют 1 см^3 деионизированной воды и 4 см^3 охлажденного метанола, тщательно встряхивают и помещают на предварительно охлажденную до 4 °С центрифугу и центрифугируют при 2000 об/мин в течение 15 мин. После центрифугирования удаляют органический слой. Образец вновь промывают трижды, добавляя каждый раз по 4 см^3 охлажденного метанола и удаляя органический слой. Затем процедуру экстракции и центрифугирования повторяют: дважды с добавлением 4 см^3 охлажденного этилового спирта и дважды с добавлением 4 см^3 охлажденного серного эфира, также удаляя органические слои. Объединенные экстракты собирают в чистую виалу.

7.1.3 Для гидролиза и дериватизации в виалу с гомогенизированной тканью по 7.1.1 или в виалу с экстрактом по 7.1.2 добавляют 50 мм^3 раствора внутреннего стандарта (см. 6.4.5), тщательно встряхивают и оставляют на 15 мин. Добавляют 5 см^3 соляной кислоты (см. 6.3.1) и 75 мм^3 раствора НБА в метаноле (см. 6.3.4). Виалу закрывают крышкой и интенсивно перемешивают на встряхивателе в течение 10 мин , затем помещают на нагревательный модуль при температуре 37 °С на 16 ч.

7.1.4 Для нейтрализации по истечении 16 ч виалу с образцом снимают с нагревательного модуля и охлаждают до комнатной температуры. После охлаждения добавляют 0,5 см^3 раствора натрия фосфорнокислого додекагидрата по 6.3.5 и тщательно перемешивают. Доводят pH до значения 7,0 при помощи раствора гидроокиси натрия (см. 6.3.3). Вновь тщательно перемешивают и оставляют на 5 мин. Значение pH проверяют по индикаторной бумаге и, при необходимости, доводят до нужного значения.

7.1.5 Для экстракции нитрофенильных производных к нейтрализованному образцу добавляют 4 см^3 этилацетата и интенсивно перемешивают на встряхивателе в течение 10 мин. Затем помещают на предварительно охлажденную до 4 °С центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 мин. Органический слой количественно переносят в круглодонную колбу. Данную процедуру повторяют два раза. Объединенные экстракты упаривают на ротационном испарителе при температуре от 40 °С до 45 °С.

---

* При определении связанных (образующих комплексы с белками) метаболитов, до процедуры гидролиза и дериватизации, необходима предварительная отмывка образцов от несвязанных (находящихся в свободном состоянии) метаболитов. При определении общих метаболитов предварительную процедуру отмывки не используют.

7.1.6 Для подготовки к хроматографическому анализу перерастворяют сухой остаток в этилацетате порциями по 2 см^3 и переносят в стеклянную виалу вместимостью 4 см^3. Помещают на нагревательный модуль и упаривают досуха*. Затем сухой остаток перерастворяют в 500 мм^3 растворителя (см. 6.3.8) на ультразвуковой бане и проводят удаление жировых фракций при помощи гексана. Для этого гексан добавляют в виалу дважды по 2 см^3, встряхивают и центрифугируют при 1500 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре. Гексановые слои отбрасывают. Полученный очищенный экстракт фильтруют через мембранный фильтр в стеклянный вкладыш, помещают в стеклянную виалу вместимостью 2 см^3 и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

7.2 Обработка проб меда

7.2.1 Для очистки образцов к навеске меда массой 2,0 г, взвешенной в полимерной виале вместимостью 15 см^3 на лабораторных весах, добавляют 5,0 см^3 соляной кислоты (см. 6.3.2) и тщательно перемешивают. Полученный раствор наносят на катридж для твердофазной экстракции.

Для проведения твердофазной экстракции картридж для ТФЭ заполняют 0,5 г сорбента. Предварительно картридж кондиционируют 2 см^3 метанола и уравновешивают 2 см^3 деионизированной воды. Пробу элюируют с сорбента при помощи 2 см^3 деионизованной воды.

7.2.2 Для гидролиза и дериватизации в виалу с очищенным образцом по 7.2.1 добавляют 50 мм^3 раствора внутреннего стандарта (см. 6.4.5), тщательно встряхивают и оставляют на 15 мин. Добавляют 5 см^3 соляной кислоты (см. 6.3.2) и 150 мм^3 раствора НБА в метаноле (см. 6.3.4). Виалу закрывают крышкой и интенсивно перемешивают на встряхивателе в течение 10 мин, затем помещают на нагревательный модуль при температуре 37 °С на 18 ч.

7.2.3 Процедуру нейтрализации образца осуществляют в соответствии с 7.1.4.

7.2.4 Для экстракции нитрофенильных производных катридж для ТФЭ предварительно кондиционируют 1 см^3 метанола, уравновешивают 1 см^3 деионизированной воды, затем наносят нейтрализованный образец. После нанесения образца катридж промывают сначала 2 см^3 деионизированной воды, затем 2 см^3 смеси метанол/вода в объемном соотношении 30/70 и сушат в течение 20 мин под вакуумом. Элюируют нитрофенильные производные с катриджа при помощи 3 см^3 раствора, приготовленного по 6.3.6.

7.2.5 Перерастворение и подготовку к хроматографированию проводят в соответствии с 7.1.6.

7.3 Обработка проб яиц, молока и молочных продуктов

7.3.1 Подготовка проб к анализу

7.3.1.1 Яйца

Яйца отделяют от скорлупы и перемешивают на гомогенизаторе.

7.3.1.2 Молоко, сливки, сметана, кисломолочные напитки и продукты, сухие молочные продукты

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают.

7.3.1.3 Сыр, творог, творожные изделия

10 г сыра, творога или творожных изделий взвешивают на часовом стекле, чашке Петри, переносят в ступку и тщательно растирают.

7.3.1.4 Масло

Перед исследованием пробу расплавляют на водяной бане при температуре 40 °С—45 °С и перемешивают до получения однородной эмульсии.

7.3.2 На лабораторных весах взвешивают 1,0 г подготовленной пробы в полимерной виале вместимостью 15 см^3. Добавляют 50 мм^3 раствора внутреннего стандарта (см. 6.4.5), тщательно перемешивают и оставляют на 15 мин. Добавляют 5 см^3 соляной кислоты (см. 6.3.1), 75 мм^3 раствора НБА (см. 6.3.4), закрывают крышкой и интенсивно перемешивают на встряхивателе в течение 10 мин. Затем помещают на нагревательный модуль при температуре 37 °С на 16 ч.

7.3.3 Для нейтрализации по истечении 16 ч виалу с образцом (см. 7.3.1) снимают с нагревательного модуля и охлаждают до комнатной температуры. После охлаждения добавляют 0,5 см^3 раствора натрия фосфорнокислого додекагидрата (см. 6.3.5) и тщательно перемешивают. Доводят pH до значения 7,0 при помощи раствора гидроокиси натрия (см. 6.3.3). Вновь тщательно перемешивают и оставляют на 5 мин. Значение pH проверяют по индикаторной бумаге и, при необходимости, доводят до нужного значения.

---

* В случае неполного упаривания к образцу добавляют 1 см^3 этилового спирта и вновь помещают на нагревательный модуль, упаривая досуха.

7.3.4 Для экстракции нитрофенильных производных к образцу, обработанному согласно 7.3.2, добавляют 4 $см^3$ этилацетата и интенсивно перемешивают на встряхивателе в течение 10 мин. Далее виалу с образцом помещают на предварительно охлажденную до 4 °С центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 мин. Органический слой количественно переносят в круглодонную колбу. Описанную процедуру экстракции проделывают еще два раза. Объединенные экстракты упаривают на ротационном испарителе при температуре от 40 °С до 45 °С.

7.3.5 Перерастворение и подготовку к хроматографическому анализу проводят согласно 7.1.6.

7.4 ВЭЖХ-МС/МС анализ

7.4.1 Для определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов проводят анализ в условиях, указанных в 6.6.

7.4.2 Время удерживания метаболитов нитрофуранов определяют при анализе градуировочных растворов.

7.4.3 При анализе каждой партии проб проводят обработку «чистого образца» в соответствии с 7.1—7.3 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 образцов при подготовке проб.

7.5 Обработка результатов хроматографического анализа

7.5.1 Расчеты содержания метаболитов нитрофуранов выполняют с помощью градуировочной характеристики следующим образом. Вычисляют отношение площади пика фрагментного иона к площади внутреннего стандарта с помощью программы обработки спектров, поставляемой вместе с хромато-масс-спектрометром. Затем, используя установленную градуировочную характеристику (см. 6.5), рассчитывают значение массовой концентрации соответствующего метаболита в подготовленной пробе. Расчеты проводят автоматически с помощью программы обработки данных для используемого в лаборатории масс-спектрометра.

7.5.2 За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (1а)

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r, \qquad (1а)$$

где X_1, X_2 — результаты параллельных определений массовой доли метаболитов нитрофуранов, мкг/кг;

r — значение предела повторяемости, % (r = 10 %).

8 Метрологические характеристики

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

Примечание — Значения относительной расширенной неопределенности, указанные в таблице 2, соответствуют границам относительной погрешности результатов измерений при P = 0,95.

Таблица 2 — Значения относительной расширенной неопределенности измерений (при коэффициенте охвата k = 2) U, %, в диапазонах измерений содержания метаболитов нитрофуранов, мкг/кг

Метаболит	Относительная расширенная неопределенность U, %, при P = 0,95 и диапазоне измерений содержания метаболитов нитрофуранов, мкг/кг				
	св. 1,0 до 2,0 включ.	св. 2,0 до 5,0 включ.	св. 5,0 до 10,0 включ.	св. 10,0 до 100,0 включ.	св. 100,0 до 1000,0 включ.
АОЗ	36	34	21	18	14
АМОЗ	43	36	26	19	14
АГД	44	30	25	22	13
СЕМ	56	40	22	22	11

9 Оформление результатов измерений

9.1 Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$\overline{X}_n \pm U_n, \quad (1)$$

где $\overline{X}_n$ — среднеарифметическое значение двух параллельных измерений содержания n-го метаболита в анализируемой пробе, мкг/кг;

$\pm U_n$ — расширенная неопределенность при коэффициенте охвата $k = 2$ определения содержания n-го метаболита нитрофуранов, определяемая по формуле (2), мкг/кг.

9.2 Значения расширенной неопределенности измерения рассчитывают с использованием значений относительной расширенной неопределенности при $k = 2$ (в соответствии с таблицей 2) по формуле

$$U_n = \overline{X}_n U \cdot 0{,}01, \quad (2)$$

где $\overline{X}_n$ — среднеарифметическое значение двух параллельных измерений содержания n-го метаболита в анализируемой пробе, мкг/кг,

U — значение относительной расширенной неопределенности содержания n-го метаболита нитрофуранов для соответствующего диапазона измерений, % (таблица 2).

10 Контроль качества результатов измерений

10.1 Контроль полноты извлечения внутреннего стандарта нитрофуранов и их метаболитов

10.1.1 Контроль извлечения внутренних стандартов нитрофуранов и их метаболитов выполняют в ходе каждого измерения (получения результата количественного химического анализа при соблюдении требований настоящего стандарта).

10.1.2 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 метаболита не принимают за окончательный результат. Проводят повторные исследования анализируемых проб.

10.2 Контроль неопределенности результатов измерений

При проведении испытаний рекомендуется в ходе анализа каждой партии образцов с использованием стандартной процедуры пробоподготовки (см. 7.1, 7.3) проводить анализ градуировочных растворов, приготовленных в соответствии с 6.4. Результаты измерений признают удовлетворительными при выполнении следующего неравенства:

$$|\overline{X}_n - X| \le \overline{X}_n U \cdot 0{,}01, \quad (3)$$

где $\overline{X}_n$ — рассчитанное с помощью градуировочной характеристики значение содержания n-го метаболита в градуировочном растворе, мкг/кг;

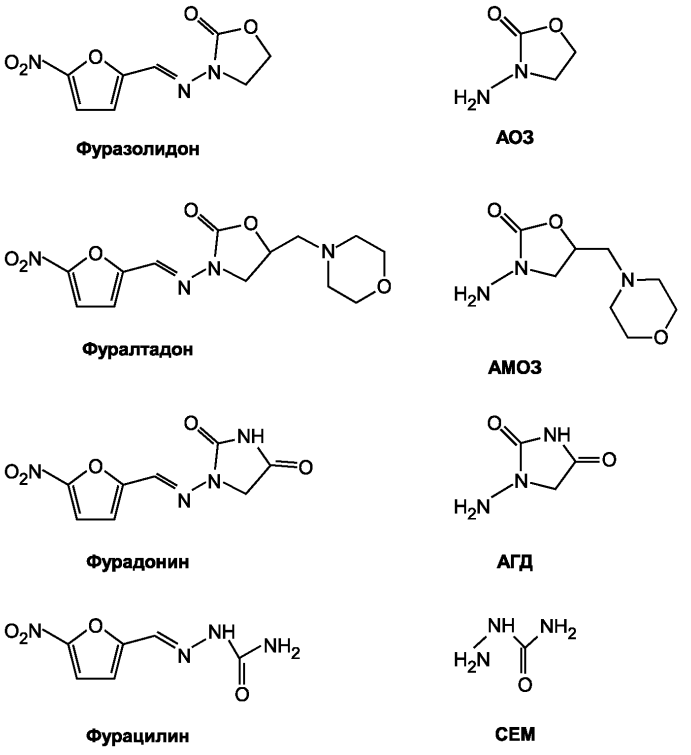
X — значение содержания n-го метаболита по паспорту на стандартный образец, мкг/кг;

U — значение относительной расширенной неопределенности содержания n-го метаболита нитрофуранов для соответствующего диапазона измерений (таблица 2), %.

Приложение А
(справочное)

Молекулярные структуры нитрофуранов и их метаболитов

А.1 Молекулярные структуры нитрофуранов и их метаболитов приведены на рисунке А.1.



а — нитрофураны б — метаболиты

Рисунок А1

Приложение Б
(обязательное)

Контроль стабильности результатов измерений

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 испытуемую 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

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

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

- верхний предел действия по формуле

$$UCL_{Д} = 3{,}686 \cdot \sigma_{I\ (T,\ O)}; \qquad (Б.2)$$

- верхний предел предупреждения по формуле

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

Расхождение (w) рассчитывают по формуле

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

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

$$S_{I(T,O)} = \frac{\sum_{i=1}^{n} w_i}{m_n \cdot d_2}, \qquad (Б.5)$$

где m_n — число измерений.

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

Библиография

[1] ISO 17604:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Carcass sampling for microbiological analysis (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Отбор проб с туши для микробиологического анализа)

УДК 664.002.3.001.4:006.354

МКС 67.050
67.100
67.120

Ключевые слова: пищевые продукты, продовольственное сырье, метаболиты нитрофуранов, метод определения содержания с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Ю. М. Прокофьева*
Компьютерная верстка *Ю.В. Демениной*

Сдано в набор 05.11.2013. Подписано в печать 21.11.2013. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,80. Тираж 118 экз. Зак. 1379.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

Изменение № 1 ГОСТ 32014—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 92-П от 25.10.2016)

Зарегистрировано Бюро по стандартам МГС № 12746 от 28.10.2016

За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: BY, KG, RU, TJ, KZ [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166) 004]

Дату введения в действие настоящего изменения устанавливают указанные национальные органы по стандартизации*

Содержание. Наименование подраздела 7.1 изложить в новой редакции:

«7.1 Обработка проб органов, тканей животных, рыбы, нерыбных объектов и продукции из них».

Раздел 1. Заменить слово: «креветки» на «рыбу, нерыбные объекты и продукцию из них».

Раздел 2. Исключить ссылку: «7631—2008 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей»;

заменить ссылки:

«ГОСТ 5962—67 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия» на «ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия»;

«ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу» на «ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты» и «ГОСТ 26809.2—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты»;

ссылку на ГОСТ ИСО 5725-6—2003 дополнить знаком сноски — *;

ссылку на ГОСТ 12.1.019—79 дополнить знаком сноски — **;

ссылку на ГОСТ 19792—2001 дополнить знаком сноски — ***;

ссылку на ГОСТ 24104—2001 дополнить знаком сноски — *4;

дополнить сносками — *, **, ***, *4:

«* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике»;

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты»;

*** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 54644—2011 «Мед натуральный. Технические условия»;

*4 На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008 «Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания»;

дополнить ссылкой: «ГОСТ 31339—2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб».

Пункт 4.1. Одиннадцатый абзац. Заменить единицу измерения: «об/с» на «об/мин».

Пункт 6.1.3. Заменить ссылку: ГОСТ 26809 на «ГОСТ 26809.1 и ГОСТ 26809.2».

Пункт 6.1.6 изложить в новой редакции:

«6.1.6 Отбор проб рыбы, нерыбных объектов и продукции из них проводят по ГОСТ 31339. Срок хранения отобранных проб при температуре от 2 °С до 8 °С — двое суток. При отсутствии возможности исследования проб в течение двух суток образцы должны быть заморожены при температуре минус 20 °С на срок хранения не более 2 мес».

Подраздел 7.1. Наименование изложить в новой редакции:

«7.1 Обработка проб органов, тканей животных, рыбы, нерыбных объектов и продукции из них».

(ИУС № 2 2017 г.)

---

* Дата введения в действие на территории Российской Федерации — 2017—03—01.

gost.e-ecolog.ru