ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54904— 2012

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 мая 2012 г. № 71-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (gost.ru)

© Стандартинформ, 2013

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 . . . 2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы . . . 2
6 Подготовка к проведению измерений . . . 5
6.1 Подготовка лабораторной посуды и реактивов . . . 5
6.2 Приготовление растворов . . . 5
6.3 Построение градуировочной характеристики . . . 6
6.4 Условия хроматографических измерений . . . 8
7 Отбор и подготовка проб . . . 9
7.1 Отбор проб . . . 9
7.2 Подготовка проб . . . 10
7.3 Очистка подготовленных проб методом твердофазной экстракции . . . 10
7.4 Перерастворение и подготовка к хроматографированию . . . 11
8 Порядок выполнения измерений . . . 11
8.1 ВЭЖХ/МС/МС анализ . . . 11
8.2 Контроль качества измерений . . . 11
9 Обработка результатов измерений . . . 11
10 Метрологические характеристики . . . 12
11 Оформление результатов измерении . . . 13
12 Контроль качества результатов измерений . . . 14
12.1 Контроль полноты извлечения внутренних стандартов . . . 14
12.2 Контроль правильности результатов измерений . . . 14
13 Требования безопасности . . . 14
Приложение А (обязательное) Контроль стабильности результатов измерений . . . 15
Библиография . . . 15

ОКС 67.050

Поправка к ГОСТ Р 54904—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 4	- температура окружающего воздуха. . . . . (20 ± 10) ºС; - напряжение в электросети . . . (220 ± 20) В; - частота тока в электросети . . . . (50 ± 1) Гц; - относительная влажность воздуха . . . . . (55 ± 25) %.	- температура окружающего воздуха . . . . . от 15 ºС до 30 ºС ; — — - относительная влажность воздуха . . . . . от 20 % до 80 %.

(ИУС № 7 2017 г.)

ОКС 67.050

Поправка к ГОСТ Р 54904—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов 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.)

ОКС 67.050

Поправка к ГОСТ Р 54904—2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 5.1, четвертое перечисление	- весы по ГОСТ Р 53228, обеспечивающие точность взвешивания с пределами абсолютной допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 0,01 мг и ± 1,00 мг;	- весы I класса точности по ГОСТ Р 53228 с действительной ценой деления шкалы не более 0,1 мг;
Пункт 6.3.1	(см. 6.2.1)	—
Раздел 10, примечание	в таблице 2	в таблице 4
Таблица 5, головка таблицы. Графа «Диапазон измерений остаточного содержания, мкг/кг», второй подзаголовок (для показателя 81)	Св. 10 до 100 включ.	Св. 1 до 10 включ.

(ИУС № 12 2019 г.)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Food products, food raw materials.
Method for determination of sulfonamides, nitroimidazoles, penicillins, amphenicols by high performance liquid chromatography — mass spectrometry

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты в части молока, молочных продуктов, яиц, яичного порошка, мяса и мясных продуктов, мяса и продуктов из мяса птицы, меда, рыбы, морепродуктов, а также продовольственное сырье и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов.

Диапазон измерений для хлорамфеникола от 0,2 до 1000 мкг/кг, для остальных соединений — от 1,0 до 1000,0 мкг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ Р 12.1.019—2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ Р 51447—99 (ИСО 3100-1—91) Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

ГОСТ Р 52121—2003 Яйца куриные пищевые. Технические условия

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 53597—2009 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ Р 53669—2009 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Методы отбора проб и органолептического анализа

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 требований безопасности

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 5848—73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначения чистоты

Издание официальное

ГОСТ 19792—2001 Мед натуральный. Технические условия

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

ГОСТ 31339—2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб

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 ежегодно издаваемому 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 заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

3.1 Определение остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).

3.2 Количественное определение остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов 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 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . (20± 10) °С;
- атмосферное давление . . . . . (90± 16) кПа;
- напряжение в электросети . . . . . (220± 20) В;
- частота тока в электросети . . . . . (50± 1) Гц;
- относительная влажность воздуха . . . . . (55± 25) %.

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

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

5.1 Для определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование и материалы:

- масс-спектрометр, диапазон измерений от 50 до 500 атомных единиц массы (а. е. м.), массовым разрешением не менее 500, точностью измерения массы не ниже 0,1 а. е. м., режимом получения и анализа фрагментных ионов (режим МС/МС);

- систему высокоэффективную жидкостную хроматографическую, состоящую из бинарного насоса со смесителем, термостата хроматографической колонки, обеспечивающего нагрев температуры до 50 °С;

- компьютер с установленным программным обеспечением для управления масс-спектрометром и обработки результатов измерений;

- весы по ГОСТ Р 53228, обеспечивающие точность взвешивания с пределами абсолютной допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 0,01 мг и ± 1,00 мг;

- пипетки одноканальные переменного объема 1—10, 10—100, 200—1000 мм^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования по гексану, метанолу и ацетонитрилу ± 2 % (Transferpettor Brand, Германия)*;
- модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 50 °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 5000 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 кГц и объемом не менее 1 дм^3;
- колонку хроматографическую обращенно-фазную длиной не менее 150 мм с размером диаметра частиц сорбента не более 3,5 мкм;
- устройство вакуумное для твердофазной экстракции;
- картриджи для твердофазной экстракции объемом не менее 12 см^3, заполненные обращенно-фазным сорбентом с размером диаметра частиц не более 50 мкм;
- пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см^3 с герметично закрывающимися пластмассовыми крышками;
- фильтры мембранные с размером диаметра пор не более 0,2 мкм;
- виалы (флаконы) стеклянные вместимостью 2 см^3 с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками диаметром 9 мм;
- пробирки мерные стеклянные П-2-10-14/23 по ГОСТ 1770;
- колбы мерные стеклянные 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

5.2 При определении остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов применяют следующие реактивы:
- метанол, х. ч.;
- н-Гексан, х. ч.;
- кислоту муравьиную по ГОСТ 5848, ч. д. а.;
- ацетонитрил, ч. д. а.;
- воду деионизованную.

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

5.3 При определении остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов применяют:

5.3.1 Стандартные образцы сульфаниламидов:
- сульфахлорпиридазин с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфатиазол с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфадиметоксин с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфахиноксалина натриевая соль с содержанием основного вещества не менее 95,0 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфапиридин с содержанием основного вещества 99 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфаметазин с содержанием основного вещества не менее 99,5 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфамеразин с содержанием основного вещества не менее 99,9 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфадиазина натриевая соль с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Sigma)**;
- триметоприм с содержанием основного вещества не менее 99,1 % (HPLC, Fluka)**;
- сульфамоксол с содержанием основного вещества не менее 99,1 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфаэтоксипиридазин с содержанием основного вещества не менее 99,5 %, (Fluka)**;
- сульфаметоксазол с содержанием основного вещества не менее 99,9 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфагуанидин моногидрат с содержанием основного вещества не менее 99,8 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфаметоксипиридазин с содержанием основного вещества не менее 99,2 % (HPLC, Sigma)**;
- сульфаниламид с содержанием основного вещества не менее 99,9 % (HPLC, Sigma)**.

---

* Указанные материалы являются рекомендуемыми к применению. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

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

5.3.2 Стандартные образцы нитроимидазолов:

- ронидазол с содержанием основного вещества не менее 99,9 % (HPLC, Witega)*;
- диметридазол с содержанием основного вещества не менее 99,9 % (HPLC, Witega)*;
- метронидазол с содержанием основного вещества не менее 99,5 % (HPLC, Witega)*;
- гидроксиметронидазол с содержанием основного вещества не менее 99,5 % (HPLC, Witega)*;
- ипронидазол с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Witega)*;
- гидроксиипронидазол с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Witega)*;
- гидроксиметилметронидазол с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Witega)*;
- тинидазол с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Sigma)*;
- тернидазол с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (HPLC, Witega)*.

5.3.3 Стандартные образцы пенициллинов:

- оксацилин с содержанием основного вещества не менее 99,3 % (HPLC, Riedel-de Haen)*;
- амоксициллина тригидрат с содержанием основного вещества не менее 98,7 % (HPLC, Riedel-de Haen)*;
- клоксациллина натриевая соль с содержанием основного вещества не менее 98,1 % (HPLC, Riedel-de Haen)*;
- диклоксациллина натриевая соль с содержанием основного вещества не менее 98,5 % (HPLC, Riedel-de Haen)*;
- ампициллина тригидрат, с содержанием основного вещества не менее 99,8 % (HPLC, Riedel-de Haen)*;
- бензилпенициллин с содержанием основного вещества не менее 99,7 % (HPLC, Riedel-de Haen)*;
- феноксиметилпенициллин с содержанием основного вещества не менее 99,7 % (HPLC, Riedel-de Haen)*.

5.3.4 Стандартные образцы амфениколов:

- хлорамфеникол с содержанием основного вещества не менее 99,1 % (HPLC, Sigma)*;
- флорфеникол амин с содержанием основного вещества не менее 99,3 % (KRKA)*;
- флорфеникол с содержанием основного вещества не менее 99,37 % (HPLC, Laboratorios HIPRA)*.

5.3.5 Внутренние стандарты сульфаниламидов:

- сульфатиазол-$Д_4$ с содержанием основного вещества 99 % (Isotopic purity, TRC)*;
- сульфадиметоксин-$Д_4$ с содержанием основного вещества 99 % (Isotopic purity, TRC)*;
- сульфаметазин-$Д_4$ с содержанием основного вещества 99 % (Isotopic purity, TRC)*;
- сульфадиазин-$Д_4$ с содержанием основного вещества 99 % (Isotopic purity, TRC)*;
- триметоприм-$Д_9$ с содержанием основного вещества 99 % (Isotopic purity, TRC)*;
- сульфаметоксазол-$Д_4$ с содержанием основного вещества 99 % (Isotopic purity, TRC)*.

5.3.6 Внутренние стандарты нитроимидазолов:

- ронидазол-$Д_3$ с содержанием основного вещества 99,8 % (HPLC, Witega)*;
- диметридазол-$Д_3$ с содержанием основного вещества 99,5 % (HPLC, Witega)*;
- метронидазол-$Д_3$ с содержанием основного вещества 99,0 % (HPLC, Witega)*;
- гидроксиметронидазол-D_3 с содержанием основного вещества 99,5 % (HPLC, Witega)*;
- ипронидазол-$Д_3$ с содержанием основного вещества 99,0 % (HPLC, Witega)*;
- гидроксиипронидазол-$Д_3$ с содержанием основного вещества 99,5 % (HPLC, Witega)*.

5.3.7 Внутренний стандарт пенициллинов:

- бензилпенициллин-$Д_7$ с содержанием основного вещества не менее 99,7 % (HPLC, Witega)*.

5.3.8 Внутренний стандарт амфениколов:

- хлорамфеникол-$Д_5$ с содержанием основного вещества 99 % (Fluka)*.

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

---

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

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 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 промывкой органическим растворителем ацетоном (дважды).

6.1.3 Процедуру промывки ацетоном 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 растворов элюентов

6.2.1.1 Для приготовления раствора элюента мобильной фазы А в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 1000 см^3 деионизированной воды.

Срок хранения раствора при 4 °С — не более 1 мес.

6.2.1.2 Для приготовления раствора элюента мобильной фазы Б в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 1000 см^3 метанола.

Срок хранения раствора при 4 °С — не более 1 мес.

6.2.3 Приготовление раствора метанола

Для приготовления раствора метанола в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 смешивают 500 см^3 деионизированной воды и 500 см^3 метанола. Колбу помещают на ультразвуковую баню на 5 мин.

Срок хранения раствора при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.4 Приготовление градуировочных растворов

6.2.4.1 Приготовление градуировочных растворов C_0

Для приготовления градуировочных растворов на аналитических лабораторных весах с пределом абсолютной допускаемой погрешности ± 0,01 мг взвешивают по 2 мг каждого стандартного образца и переносят в отдельные мерные пробирки вместимостью 15 см^3. Добавляют 8 см^3 метанола, помещают в ультразвуковую баню на одну мин, доводят полученный раствор до метки 10 см^3 раствором метанола (см. 6.2.3).

Массовая концентрация каждого аналита в растворе C_0 составляет 200 мкг/см^3.

Срок хранения растворов при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.4.2 Приготовление градуировочных растворов C_1

Для приготовления градуировочных растворов C_1 переносят по 0,05 см^3 каждого раствора C_0 в мерные пробирки вместимостью 15 см^3, доводят до метки метанолом и тщательно перемешивают.

Массовая концентрация каждого аналита в растворе C_1 составляет 1 мкг/см^3.

Срок хранения растворов при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.4.3 Приготовление градуировочных растворов D_0 (внутренних стандартов анализируемых соединений)

Для приготовления градуировочных растворов D_0 на аналитических весах с пределом абсолютной допускаемой погрешности ± 0,01 мг взвешивают по 2 мг чистого вещества стандартного образца и переносят в отдельные мерные пробирки вместимостью 15 см^3. Добавляют 8 см^3 метанола (пенициллин G-$Д_7$ растворяют в 8 см^3 деионизированной воды), перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на одну мин, доводят полученный раствор до метки 10 см^3 метанолом.

Массовая концентрация каждого аналита в растворе D_0 составляет 200 мкг/см^3.

Срок хранения растворов при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.4.4 Приготовление градуировочных растворов D_1 (внутренних стандартов анализируемых соединений)

Для приготовления градуировочных растворов D_1 переносят по 0,02 см^3 каждого раствора D_0 в мерные пробирки вместимостью 15см^3, доводят до метки 10 см^3 деионизированной водой и перемешивают.

Массовая концентрация каждого аналита в растворе D_1 составляет 400 нг/см^3.

Срок хранения растворов при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.4.5 Приготовление градуировочных растворов C_2

Для приготовления градуировочного раствора C_2 к сухому остатку после упаривания «чистой» пробы, полученной в соответствии с условиями подготовки проб (раздел 7), переносят по 0,1 см^3 растворов C_1 и D_1 и доводят до метки 1 см^3 деионизированной водой.

Массовая концентрация аналита в растворе C_2 составляет 100 нг/см^3. Массовая концентрация внутреннего стандарта в растворе C_2 составляет 40 нг/см^3.

Срок хранения растворов при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.4.6 Приготовление градуировочных растворов C_3

Для приготовления градуировочного раствора C_3 к сухому остатку после упаривания «чистой» пробы, полученной в соответствии с условиями подготовки проб (раздел 7), переносят 0,01 см^3 раствора C_1 и 0,1 см^3 раствора D_1 и доводят до метки 1 см^3 деионизированной водой.

Массовая концентрация аналита в растворе C_3 составляет 10 нг/см^3. Массовая концентрация внутреннего стандарта в растворе C_3 составляет 40 нг/см^3.

Срок хранения растворов при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.4.7 Приготовление градуировочных растворов C_4

Для приготовления градуировочного раствора C_4 к сухому остатку после упаривания «чистой» пробы, полученной в соответствии с условиями подготовки проб (раздел 7), переносят 0,001 см^3 раствора C_1 и 0,1 см^3 раствора D_1 и доводят до метки 1 см^3 деионизированной водой.

Массовая концентрация аналита в растворе C_4 составляет 1 нг/см^3. Массовая концентрация внутреннего стандарта в растворе C_4 составляет 40 нг/см^3.

Срок хранения растворов при температуре от 0 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.3 Построение градуировочной характеристики

6.3.1 Градуировочную характеристику строят при помощи матричной градуировки. Для этого проводят обработку «чистых» проб, не содержащих сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов (см. 6.2.1), в зависимости от типа анализируемой матрицы. На стадии перерастворения остатка после упаривания элюата после твердофазной экстракции перед введением в хроматограф в анализируемую «чистую» пробу добавляют смеси градуировочных растворов анализируемых соединений и их внутренних стандартов (см. 6.2.4.5—6.2.4.7).

6.3.2 Для получения градуировочных данных используют не менее четырех уровней массовых концентраций матричных градуировочных растворов. Определяемые в анализируемой пробе массовые концентрации анализируемых соединений должны находиться в диапазоне массовых концентраций градуировочной характеристики.

6.3.3 При построении градуировочной характеристики для количественного определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов в инжектор хроматографа вводят по 50 мм^3 и не менее двух раз градуировочные растворы (см. 6.2.4.5—6.2.4.7) различных уровней массовых концентраций. Фактические массовые концентрации рассчитываются с учетом чистоты стандарта и молекулярного веса соединения в диссоциированном состоянии. Используя программное обеспечение для сбора и обработки хроматографических данных, для анализируемых соединений устанавливают градуировочные характеристики в виде зависимостей отношения площадей хроматографических пиков соответствующего соединения к площади пика внутреннего стандарта от массовой концентрации соединения в пробе в соответствии с таблицей 1.

При построении градуировочной характеристики используют функцию, обеспечивающую наилучшее совпадение с матричными точками (отклонение массовых концентраций, вычисленных при помощи градуировочной характеристики, от известных массовых концентраций должно быть минимальным).

Градуировочная характеристика считается приемлемой, если рассчитанное значение квадрата коэффициента корреляции для градуировочной характеристики каждого фрагментного иона составит не менее 0,98.

6.3.4 Вычисление площади пика проводят для каждого дочернего иона анализируемых соединений. Допускается проведение количественных измерений по одному наиболее интенсивному дочернему иону. Для подтверждения наличия сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов рассчитывают массовые концентрации по площадям пиков менее интенсивных дочерних ионов.

Таблица 1 — Соответствие между анализируемыми соединениями и внутренними стандартами

Наименование сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола	Наименование внутреннего стандарта
Нитроимидазолы	
Диметридазол	Диметридазол-$Д_3$
Ронидазол	Ронидазол-$Д_3$
Ипронидазол	Ипронидазол-$Д_3$
Гидроксиипронидазол	Гидроксиипронидазол-$Д_3$
Метронидазол	Метронидазол-$Д_3$
Гидроксиметронидазол	Метронидазол-$Д_3$
Гидроксиметилметронидазол	Гидроксиметилметронидазол-$Д_3$
Тернидазол	Ронидазол-$Д_3$
Тинидазол	Ронидазол-$Д_3$
Амфениколы	
Хлорамфеникол	Хлорамфеникол-$Д_5$
Флорфеникол	Хлорамфеникол-$Д_5$
Флорфеникол амин	Хлорамфеникол-$Д_5$
Сульфаниламиды	
Сульфапиридин	Сульфадиазин-$Д_4$
Сульфадиазин	Сульфадиазин-$Д_4$
Сульфатиазол	Сульфатиазол-$Д_4$
Сульфамеразин	Сульфадиазин-$Д_4$
Сульфаметазин	Сульфаметазин-$Д_4$
Сульфахлорпиридазин	Сульфаметазин-$Д_4$
Сульфахиноксалин	Сульфадиазин-$Д_4$
Сульфаэтоксипиридазин	Сульфаметаксазол-$Д_4$
Сульфагуанидин	Сульфадиазин-$Д_4$
Сульфаметаксазол	Сульфаметаксазол-$Д_4$
Сульфаметоксипиридазин	Сульфаметаксазол-$Д_4$
Сульфамоксол	Сульфаметаксазол-$Д_4$
Сульфаниламид	Сульфаметазин-$Д_4$
Сульфадиметоксин	Сульфадиметоксин-$Д_4$
Триметоприм	Триметоприм-$Д_9$
Пенициллины	
Бензилпенициллин	Бензилпенициллин-$Д_7$
Феноксиметилпенициллин	Бензилпенициллин-$Д_7$
Ампициллин	Бензилпенициллин-$Д_7$
Оксациллин	Бензилпенициллин-$Д_7$
Амоксициллин	Бензилпенициллин-$Д_7$
Диклоксациллин	Бензилпенициллин-$Д_7$
Клоксациллин	Бензилпенициллин-$Д_7$

6.4 Условия хроматографических измерений

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

- скорость потока элюента — 200 мм^3/мин;
- объем вводимой пробы — 50 мм^3.

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования. При регистрации положительных ионов: в начальный момент по 0,5 мин — соотношение фазы А/Б по объему (90/10); с 0,5 по 20,0 мин — градиентное элюирование к 40 % фазы Б; с 20,0 по 23,0 мин — соотношение фазы А/Б по объему (60/40); с 23,0 по 23,2 мин — переход к 100 % фазы Б; с 23,2 по 25,0 мин — поддерживается 100 % фазы Б; с 25,0 по 33,0 мин — уравновешивание колонки в фазе А/Б по объему (90/10).

При регистрации отрицательных ионов: в начальный момент до 0,5 мин соотношение фаз А/Б по объему (75/25); с 0,5 по 4,0 мин — градиентное элюирование до 100 % фазы Б; с 4,0 по 6,5 мин поддерживается 100 % фазы Б; с 6,5 по 13 мин — уравновешивание колонки растворителем А/Б по объему (75/25).

Детектирование пиков проводят методом «регистрации выбранных реакций» (MRM). Для каждого соединения измеряют сигнал для двух ионов согласно таблице 2.

Таблица 2 — Параметры воздействия на ионы в режиме MRM и условиях электроспрея с регистрацией положительных или отрицательных ионов

Наименование сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Время удерживания, мин
Нитроимидазолы			
Диметридазол	142,1 (+)	81,1/96,1	9,5
Диметридазол-$Д_3$*	145,1 (+)	99,1	9,3
Ронидазол-$Д_3$*	204,1 (+)	143,1	6,5
Ронидазол	201,1 (+)	140,1/110,1	6,9
Ипронидазол	170,1 (+)	124,1/109,1	19,6
Ипронидазол-$Д_3$*	173,1 (+)	127,1	19,4
Гидроксиипронидазол	186,1 (+)	168,1/122,1	15,6
Гидроксиипронидазол-$Д_3$*	189,1 (+)	171,1	15,3
Метронидазол	172,1 (+)	128,1/82,1	7,3
Гидроксиметронидазол	188,1 (+)	123,1/126,1	4,6
Метронидазол-$Д_3$*	175,1 (+)	131,1	7,0
Гидроксиметилметронидазол	158,1 (+)	140,1/55	5,8
Гидроксиметилметронидазол-$Д_3$*	161,1 (+)	143,1	5,5
Тернидазол	186,1 (+)	128,1/82,1	11,3
Тинидазол	248,1 (+)	121,1/93,0	10,5
Амфениколы			
Хлорамфеникол	321,0 (–)	152,0/257,0/194,0	7,7
Хлорамфеникол-$Д_5$*	326,1 (–)	157,0	7,7
Хлорамфеникол-$Д_5$*	328,1 (+)	280,1	20,5
Флорфеникол	356,1 (–)	185,1/119.1	6,7
Флорфеникол амин	248,1 (–)	230,1/130,1	1,7
Сульфаниламиды			
Сульфапиридин	250,1 (+)	184,1/156,1	10
Сульфадиазин	251,1 (+)	156,1/108,1	7,1
Сульфадиазин-$Д_4$*	255,1 (+)	160,1	6,7

Окончание таблицы 2

Наименование сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Время удерживания, мин
Сульфатиазол	256,1 (+)	156,1/108,1	9,0
Сульфатиазол-$Д_4$*	260,1 (+)	160,1	8,7
Сульфамеразин	265,1 (+)	156,1/110,1	10,9
Сульфаметазин	279,1 (+)	186,1/124,1	14,2
Сульфаметазин-$Д_4$*	283,1 (+)	186,1	13,9
Сульфахлорпиридазин	285,1 (+) 287,1 (+)	156,1 156,1	15,8
Сульфахиноксалин	301,1 (+)	156,1/146,1	24,3
Сульфаэтоксипоридазин	295,1 (+)	156,1/140,1	20,8
Сульфагуанидин	215,1 (+)	156,1/60,1	2,8
Сульфаметаксазол	254,1 (+)	156,1/108,1	16,3
Сульфаметаксазол-$Д_4$*	258,1 (+)	160,1	16,0
Сульфаметоксипиридазин	281,1 (+)	156.1/108,1	14,9
Сульфамоксол	268,1 (+)	156,1/113,1	13,6
Сульфаниламид	173,1 (+)	156,1/92,1	3,0
Сульфадиметоксин	311,1 (+)	156,1/245,1	23,2
Сульфадиметоксин-$Д_4$*	315,1 (+)	160,1	23,0
Триметоприм	291,1 (+)	230,1/130,1	7,2
Триметоприм-$Д_9$*	300,1 (+)	230,1	6,7
Пенициллины			
Бензилпенициллин	333,0 (–)	289,0/192,0	8,2
Бензилпенициллин-$Д_7$*	340,0 (–)	199,0	8,5
Бензилпенициллин-$Д_7$*	342,1 (+)	183,1	27,0
Феноксиметилпенициллин	349,0 (–)	208,0/305,0	8.3
Ампициллин	350,1 (+)	192,1/106,1	13,6
Оксациллин	400,1 (–)	259,0/356,1	8,3
Амоксициллин	366,1 (+)	114,1/208,0	3,4
Диклоксациллин	468,0 (–)	424,1/327,0	8,5
Клоксациллин	434,1 (–)	390,1/290,1	8,4
* Внутренний стандарт.			

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб

7.1.1 Отбор проб мяса и мясных продуктов — по ГОСТ Р 51447.

7.1.2 Отбор проб мяса птицы, пищевых субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы — по ГОСТ Р 53597.

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

7.1.4 Отбор проб меда — по ГОСТ 19792.

7.1.5 Отбор проб яиц и яичного порошка — по ГОСТ Р 52121 и ГОСТ Р 53669.

7.1.6 Отбор проб рыбы и морепродуктов — по ГОСТ 31339.

7.2 Подготовка проб

7.2.1 Обработка проб мяса, мясных продуктов, рыбы и морепродуктов, субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы

Мышечную ткань предварительно очищают от грубой соединительной ткани и грубого хитинового покрова. 100 г анализируемой пробы измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах (с пределом абсолютной допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 1,0 мг) в полипропиленовой пробирке вместимостью 50 см^3 1,0 г гомогенизированной пробы. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см^3 раствора D_1 (6.2.4.4). Пробирку помещают в шейкер для перемешивания на 10 мин. Через 15 мин приливают 4 см^3 ацетонитрила и помещают пробирку на 15 мин в шейкер для экстракции. Затем центрифугируют при 4000 об/мин в течение 15 мин при температуре 4 °С. После центрифугирования верхний органический слой переливают в другую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3, помещают на нагревательный модуль и упаривают в токе воздуха при температуре 40 °С до 0,1—0,2 см^3. К полученному остатку приливают 2 см^3 деионизованной воды, перемешивают и центрифугируют со скоростью 4000 об/мин в течение 15 минут при температуре 4 °С. Центрифугат используют для твердофазной экстракции.

7.2.2 Обработка проб яиц

Яйца отделяют от скорлупы и перемешивают на гомогенизаторе. Взвешивают на весах (с пределом абсолютной допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 1,0 мг) 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см^3. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см^3 раствора внутренних стандартов D_1 (6.2.4.4). Далее обработку проб и подготовку к хроматографированию проводят по 7.2.1.

7.2.3 Обработка проб яичного порошка

1,0 г отобранной пробы яичного порошка тщательно перемешивают и взвешивают на весах (с пределом абсолютной допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 1,0 мг) в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см^3. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см^3 раствора внутренних стандартов D_1 (6.2.4.4). и выдерживают 15 мин. Затем приливают 4 см^3 ацетонитрила и помещают пробирку в шейкер на 15 мин для перемешивания. Затем центрифугируют при 4000 об/мин в течение 15 мин при температуре 4 °С. После центрифугирования верхний органический слой переливают в другую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3, помещают на нагревательный модуль и упаривают в токе воздуха при температуре 40 °С до 0,1—0,2 см^3. К полученному остатку приливают 2 см^3 деионизованной воды, перемешивают и центрифугируют со скоростью 4000 об/мин в течение 15 минут при температуре 4 °С. Центрифугат используют для твердофазной экстракции.

7.2.4 Обработка проб молока и молочных продуктов

Молоко, сливки, сметану, кисломолочные напитки и продукты, сухие молочные продукты перед анализом тщательно перемешивают.

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

Далее обработку проб и подготовку к хроматографированию проводят по 7.2.3.

100 г твердого сыра измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах (с пределом абсолютной допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 1,0 мг) в полипропиленовой пробирке вместимостью 50 см^3 по 1,0 г гомогенизированной пробы. Далее обработку проб и подготовку к хроматографированию проводят по 7.2.1.

7.2.5 Обработка проб меда

1,0 г отобранной пробы меда тщательно перемешивают и взвешивают на весах (с пределом абсолютной допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 0,01 мг) в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см^3. Далее обработку проб и подготовку к хроматографированию проводят по 7.2.3.

7.3 Очистка подготовленных проб методом твердофазной экстракции

Картриджи для твердофазной экстракции кондиционируют на вакуумном устройстве для твердофазной экстракции, пропуская последовательно: 2 см^3 ацетонитрила и 2 см^3 деионизированной воды. Затем через картридж пропускают анализируемую пробу, полученную в соответствии с 7.2 (на всех этапах твердофазной экстракции, кроме этапов сушки, вакуум или избыточное давление не применяют). Промывают картридж 2 см^3 деионизированной воды, затем сушат картридж 10 мин. Далее элюируют аналиты 2 см^3 ацетонитрила. Элюат упаривают на нагревательном модуле в токе воздуха до 0,1 см^3 при температуре 40 °С.

7.4 Перерастворение и подготовка к хроматографированию

Для перерастворения и подготовки к хроматографированию объем полученного упаренного элюата в мерной пробирке вместимостью 10 $см^3$ доводят до 1 $см^3$ деионизованной водой и помещают на ультразвуковую баню на одну минуту. Полученный экстракт фильтруют через мембранный фильтр и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

8 Порядок выполнения измерений

8.1 ВЭЖХ/МС/МС анализ

Для определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов проводят ВЭЖХ-МС/МС анализ в условиях, указанных в 6.4.

ВЭЖХ-МС/МС анализ выполняют в виде серии измерений, включающей:

- образец мобильной фазы А;
- образец, полученный в условиях подготовки проб, где вместо матрицы использовался 1,0 г деионизованной воды;
- образец, приготовленный ранее в соответствии с требованиями раздела 7, в зависимости от типа анализируемой матрицы;
- градуировочные растворы;
- анализируемые пробы;
- образцы с известным содержанием анализов для контроля стабильности градуировки.

Если остаточное содержание сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов в анализируемой пробе превышает значение максимального градуировочного уровня, то анализируемую пробу разводят в 10 или более раз мобильной фазой А и проводят повторные измерения.

8.2 Контроль качества измерений

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

8.2.2 10 $мм^3$ градуировочного раствора C_4 (см. 6.2.4.7) вводят в инжектор хроматографа. Полученное соотношение сигнал/шум для каждого аналита должно быть не менее 10.

8.2.3 Для исключения контаминации пробы используемыми реагентами проводят обработку заведомо чистого образца в соответствии с разделом 7 в зависимости от типа анализируемой матрицы.

8.2.4 Для учета матричного эффекта при расчете остаточных содержаний нитроимидазолов, сульфаниламидов, пенициллинов и амфениколов используют матричную градуировку (см. 6.3).

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

9 Обработка результатов измерений

9.1 Расчеты остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов и площади пика выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

9.2 Вычисление площади пика проводят для двух дочерних ионов (таблица 2) для каждого сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола. 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 3.

Таблица 3 — 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	± 25
» 10 » 20	± 30
Менее или равно 10	± 50

9.3 Результаты измерений округляют до второго десятичного знака и выражают в мкг/кг.

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

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

где X_1, X_2 — результаты двух параллельных определений массовой доли аналитов, мкг/кг;

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

9.5 Если условие (1) не выполняется, проводят еще два определения. За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие

$$\frac{4|X_{max} - X_{min}|100}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)} \le CR_{0,95}, \quad (2)$$

где X_{max}, X_{min} — максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой доли аналитов, мкг/кг;

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

$$CR_{0,95} = f(n)\ \sigma_r, \quad (3)$$

для n = 4

$$CR_{0,95} = 3{,}6\ \sigma_r, \quad (4)$$

где σ_r — показатель повторяемости, % (σ_r = 3,6 %).

9.6 Если условие (2) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют измерения в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

10 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов с расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений при коэффициенте охвата k = 2, указанной в таблицах 4 и 5.

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

Таблица 4 — Значения расширенной относительной неопределенности V_i, %, при коэффициенте охвата k = 2 в диапазонах измерений остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов

Наименование сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола	Диапазон измерений остаточного содержания, мкг/кг		
	От 1,0 до 10 включ.	Св. 10 до 100 включ.	Св. 100 до 1000 включ.
Нитроимидазолы			
Диметридазол	64	35	26
Ронидазол	59	33	22
Ипронидазол	67	28	19
Гидроксиипронидазол	58	27	23
Метронидазол	65	27	19
Гидроксиметронидазол	58	31	28
Гидроксиметилметронидазол	64	36	25
Тернидазол	71	31	26
Тинидазол	73	28	23
Амфениколы			
Флорфеникол	65	29	23

Окончание таблицы 4

Наименование сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола	Диапазон измерений остаточного содержания, мкг/кг		
	От 1,0 до 10 включ.	Св. 10 до 100 включ.	Св. 100 до 1000 включ.
Флорфеникол амин	58	35	27
Сульфаниламиды			
Сульфапиридин	64	34	25
Сульфадиазин	60	40	25
Сульфатиазол	65	38	20
Сульфамеразин	58	46	19
Сульфаметазин	60	47	20
Сульфахлорпиридазин	65	39	18
Сульфахиноксалин	47	35	17
Сульфаэтоксипоридазин	55	37	16
Сульфагуанидин	98	35	31
Сульфаметаксазол	68	34	19
Сульфаметоксипиридазин	54	46	26
Сульфамоксол	65	36	21
Сульфаниламид	58	46	26
Сульфадиметоксин	67	43	32
Триметоприм	64	38	27
Пенициллины			
Бензилпенициллин	74	46	28
Феноксиметилпенициллин	76	42	25
Ампициллин	72	41	20
Оксациллин	76	37	19
Амоксициллин	79	45	18
Диклоксациллин	73	41	17
Клоксациллин	68	38	19

Таблица 5 — Значения расширенной относительной неопределенности V_i, %, при коэффициенте охвата $k = 2$ в диапазонах измерений остаточного содержания хлорамфеникола, мкг/кг

Наименование амфеникола	Диапазон измерений остаточного содержания, мкг/кг			
	От 0,2 до 1,0	Св. 10 до 100 включ.	Св. 10 до 100 включ.	Св. 100 до 1000 включ.
Хлорамфеникол	93	81	31	24

11 Оформление результатов измерений

Содержание *i*-го сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола, мкг/кг, представляют в виде

$$\overline{X} \pm 0{,}01 V_i \cdot \overline{X}, \quad (5)$$

где $\overline{X}_i$ — среднеарифметическое значение результатов n параллельных измерений содержания *i*-го сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола в анализируемой пробе, мкг/кг;

$\pm V_i$ — расширенная относительная неопределенность при коэффициенте охвата $k = 2$ определения содержания *i*-го сульфаниламида, нитроимидазола, пенициллина, амфеникола, %.

12 Контроль качества результатов измерений

12.1 Контроль полноты извлечения внутренних стандартов

12.1.1 Контроль извлечения внутренних стандартов сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов 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 35 % до 130 %. Если рассчитанное значение извлечения ниже или выше указанного диапазона, то результаты измерения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов не принимают за окончательный результат. Проводят повторное определение.

12.2 Контроль правильности результатов измерений

При соблюдении требований настоящего стандарта рекомендуется в ходе анализа каждой серии образцов проводить анализ с известным содержанием анализов с использованием стандартной процедуры подготовки проб (7.2).

Результаты измерений признают удовлетворительными при выполнении следующего неравенства:

$$|\overline{X}_{ic} - X_{ia}| \le \overline{X}_{ic}\, V_i \cdot 0{,}01, \qquad (6)$$

где $\overline{X}_{ic}$ — среднеарифметическое значение содержания i-го аналита в анализируемом образце с известным содержанием i-го анализа, мкг/кг;

X_{ia} — установленное значение содержания i-го аналита по паспорту на стандартный образец, с известным содержанием i-го анализа, мкг/кг;

V_i — значение относительной расширенной неопределенности содержания i-го аналита для соответствующего диапазона измерений (таблицы 4 и 5), %.

13 Требования безопасности

13.1 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.

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

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

13.4 При проведении испытаний следует соблюдать требования ГОСТ 12.2.085 и правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением [1].

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

13.6 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.

Приложение А
(обязательное)

Контроль стабильности результатов измерений

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

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории при реализации метода настоящего стандарта осуществляют по ГОСТ Р 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 анализируемой пробы ее 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

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

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

- верхний предел действия по формуле

$$UCL_{д} = 3{,}686\ \sigma_{I(T,\,O)}; \tag{A.2}$$

- верхний предел предупреждения по формуле

$$UCL_{п} = 2{,}834\ \sigma_{I(T,\,O)}. \tag{A.3}$$

Расхождение (w) рассчитывают по формуле

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

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

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

где m_n — число измерений.

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

Библиография

[1] ПБ 03-576—2003 Правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением (Утверждены Постановлением Госгортехнадзора России от 11.06.2003 № 91)

УДК 637,638:614.3:006.354 ОКС 67.050 Н09

Ключевые слова: пищевые продукты, продовольственное сырье, сульфаниламиды, нитроимидазолы, пенициллины, амфениколы, метод определения содержания, высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, условия выполнения измерений, средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы, подготовка к проведению измерений, отбор и подготовка проб, порядок выполнения измерений, обработка результатов измерений, метрологические характеристики, оформление результатов измерений, контроль качества результатов измерений, требования безопасности

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Ю.М. Прокофьева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 17.10.2013. Подписано в печать 28.10.2013. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,78. Тираж 203 экз. Зак. 1247.

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.

gost.e-ecolog.ru