ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54032— 2010

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения содержания бета-адреностимуляторов с помощью газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

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

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

3 УТВЕРЖДЕН Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. № 646-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 2011

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, реактивы и материалы . . . 2
6 Подготовка к проведению измерений . . . 4
7 Отбор проб . . . 8
8 Порядок выполнения измерений . . . 10
9 Обработка результатов ГХ-МС анализа . . . 11
10 Метрологические характеристики . . . 13
11 Оформление результатов измерений . . . 13
12 Контроль точности измерений . . . 14
13 Требования безопасности . . . 14
Библиография . . . 15

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения содержания бета-адреностимуляторов с помощью газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Food products, feeds, food raw materials.
Method of determination of β-agonists by gas chromatography with mass spectrometry detector

Дата введения — 2012—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты пищевые в части мяса и мясных продуктов, включая мясо и продукты из мяса птицы, комбикорма и продовольственное сырье, и устанавливает метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (далее — ГХ-МС) для идентификации и количественного определения бета-адреностимуляторов.

Диапазон измерений — от 0,1 до 100,0 мкг/кг.

Примечание — Метод может быть использован для определения содержания бета-адреностимуляторов в физиологических жидкостях, шерсти и органах животных.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

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

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

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

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

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

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

ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 9805—84 Спирт изопропиловый. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 13496.0—80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначение чистоты

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

ГОСТ 24147—80 Аммиак водный особой чистоты. Технические условия

ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

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

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 соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. 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

Идентификацию и количественное определение бета-адреностимуляторов методом ГХ-МС проводят с использованием стандартных образцов бета-адреностимуляторов.

Количественное определение бета-адреностимуляторов проводят методом внутреннего стандарта по площади пика идентифицированных соединений относительно градуировочной зависимости, полученной при анализе градуировочных растворов известных соединений в аналогичных условиях.

4 Условия выполнения измерений

При определении содержания бета-адреностимуляторов в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . от 10 °С до 30 °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 30 % до 80 %.

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

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

5.1 Для определения содержания бета-адреностимуляторов применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование и материалы:

- хромато-масс-спектрометр, позволяющий проводить измерения в диапазоне от 45 до 650 атомных единиц массы (а.е.м.), с разрешением по шкале масс не более 1,0 а.е.м. и чувствительностью в режиме ионизации электронным ударом: при инжекции в колонку 2 пг гексахлорбензола (сканирование в диапазоне от 45 до 350 а.е.м. за 1 с) отношение сигнал/шум на молекулярном ионе с m/z 284 не менее 10/1;

- колонку кварцевую капиллярную 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм с индексом полярности неподвижной жидкой фазы от пяти до 30;

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

- автосамплер для газового хроматографа;

- 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 метанолу не более 2 % (Transferpettor Brand, Германия)*;
- весы класса точности I и класса точности II с дискретностью отсчета d = 0,01 мг, поверочным делением e = 100 d по ГОСТ Р 53228;
- модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 250 °С;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- гомогенизатор лабораторный конфигурации ротор-статор;
- испаритель ротационный со скоростью вращения от 20 до 280 об/мин и температурным диапазоном нагревательной бани от 30 °С до 100 °С;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения ротора не менее 3500 об/с и диапазоном рабочих температур от минус 10 °С до плюс 25 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15, 50 см^3 и микроцентрифужных пробирок вместимостью 1,5 см^3;
- картридж для твердофазной экстракции объемом не менее 6 см^3, заполненный обращенно-фазным сорбентом С18 с размером диаметра частиц не более 50 мкм;
- устройство вакуумное для твердофазной экстракции;
- флаконы стеклянные вместимостью 4 см^3 с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- флаконы стеклянные вместимостью 40 см^3 с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- флаконы стеклянные вместимостью 2 см^3 с завинчивающимися крышками, тефлоновыми прокладками и вставками объемом 100 мм^3;
- колбы мерные стеклянные 2-10-2, 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770;
- колбы стеклянные П-2-100-32 ТС по ГОСТ 25336;
- баню ультразвуковую с рабочей частотой не менее 20 кГц и объемом не менее 1 дм^3;
- шейкер вортексного типа движения, с амплитудой встряхивания 5 мм;
- шейкер орбитального типа движения с максимальной скоростью вращения 1000 об/мин;
- pH-метр с набором электродов с пределами абсолютной погрешности измерений ± 0,01 ед. pH;
- фильтры мембранные с размером диаметра пор не более 0,45 мкм;
- шкаф сушильный лабораторный с автоматическим регулированием температуры в рабочем пространстве от 25 °С до 300 °С.

5.2 При выполнении измерений применяют следующие реактивы и материалы:
- гелий газообразный (сжатый) высокой чистоты, марка 6.0;
- азот газообразный особой чистоты по ГОСТ 9293;
- фермент протеолитический Subtilisine A (Sigma, Германия, № P-5380)*;
- кислоту уксусную по ГОСТ 61, х. ч.;
- кислоту соляную по ГОСТ 3118, х. ч.;
- кислоту хлорную 65 %-ную, х. ч.;
- кальций хлористый двухводный, х. ч.;
- аммиак водный по ГОСТ 24147, о.с.ч.;
- кислоту метилборную, х. ч.;
- *N*-метил-*N*-триметилсилил-трифторацетамид (МСТФА) (Sigma, Германия, № M-7891)*;
- триметилйодсилан (ТМИС) (Aldrich, Германия, № 19,552-9)*;
- дитиоэритритол (ДТЭ), х. ч.;
- *N*,*N*-бис-триметилсилил-трифторацетамид (БСТФА) (Sigma, Германия, № T-5634)*;
- триметилхлорсилан (ТМХС) (Sigma, Германия, № T-4252)*;
- эфир метил-третбутиловый для хроматографии;
- *н*-Гексан х.ч.;
- калия гидроокись по ГОСТ 24363, х. ч.;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.;
- метанол-яд по ГОСТ 6995;
- этанол абсолютный, х. ч.;

---

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

- сок пищеварительный Helix pomatia (Merck, Германия, № 1.04114)*;
- воду деионизованную;
- спирт изопропиловый по ГОСТ 9805, о.с.ч.;
- эфир этиловый уксусной кислоты по ГОСТ 22300, х.ч.;
- сорбент Bondesil C18 40 мкм (Varian, США, № 12213012)*;
- твин 20 (Sigma, Германия, № P-2287)*;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.;
- калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198;
- натрий уксуснокислый, х. ч.;
- трис(гидроксиметил)-аминометан, х. ч.

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

5.3 Для определения содержания бета-адреностимуляторов применяют следующие стандартные образцы:

- цимбутерол-d9 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT**, Wageningen UR)*;
- цимбутерол массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)*;
- кленбутерол-d6 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)*;
- кленбутерол массовой долей основного вещества не менее 99,0 % (Boehringer, Ingelheim)*;
- сальбутамол-d6 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)*;
- сальбутамол массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (SIGMA, Deisenhofen)*;
- мапентерол массовой долей основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, Wageningen UR)*;
- мапентерол-d11 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)*;
- тербуталин массовой долей основного вещества не менее 99,0 % (SIGMA, Deisenhofen)*;
- тербуталин-d9 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)*;
- стандартные образцы с аттестованной массовой долей кленбутерола и сальбутамола:

1) лиофилизованная моча (IRMM***, BCR-504)*;
2) лиофилизованная печень, чистый образец (IRMM, BCR-648)*;
3) лиофилизованная печень (IRMM, BCR-649)*.

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.

6 Подготовка к проведению измерений

6.1 Приготовление растворов

6.1.1 Приготовление трис-буфера молярной концентрации c = 0,2 моль/дм^3 и pH 8,0

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 24,2 г трис(гидроксиметил)-аминометана и 14,7 г кальция хлористого двухводного, растворяют в 800 см^3 деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до (8,0 ± 0,1) соляной кислотой молярной концентрации c = 1 моль/дм^3 (5.2) и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 мес.

6.1.2 Приготовление фосфатного буферного раствора молярной концентрации c = 0,1 моль/дм^3 и pH 5,0

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 13,6 г калия фосфорнокислого однозамещенного, растворяют в 900 см^3 деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до (5,0 ± 0,1) соляной кислотой молярной концентрации c = 1 моль/дм^3 (5.2) и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 3 мес.

---

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

** Институт пищевой безопасности, расположенный в Нидерландах.

*** Институт референтных материалов и измерений, расположенный в Бельгии.

6.1.3 Приготовление фосфатного буферного раствора молярной концентрации c = 0,1 моль/дм^3 и pH 6,0

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 13,6 г калия фосфорнокислого однозамещенного, растворяют в 900 см^3 деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до (6,0 ± 0,1) соляной кислотой молярной концентрации c = 1 моль/дм^3 (5.2) и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 3 мес.

6.1.4 Приготовление ацетатного буферного раствора молярной концентрации c = 0,2 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 16,4 г натрия уксуснокислого, растворяют в 900 см^3 деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до (5,0 ± 0,1) концентрированной уксусной кислотой и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 мес.

6.1.5 Приготовление растворов для дериватизации

Для приготовления раствора МСТФА/ТМИС/ДТЭ смешивают 1000 мм^3 МСТФА и 5 мм^3 ТМИС во флаконе вместимостью 2 см^3, добавляют к полученному раствору 2 мг ДТЭ.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 недели.

Для приготовления раствора БСТФА/ТМХС смешивают 1000 мм^3 БСТФА и 10 мм^3 ТМХС во флаконе вместимостью 2 см^3.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 недели.

6.1.6 Приготовление раствора аммиака в изопропиловом спирте

Во флакон вместимостью 40 см^3 вносят 15 см^3 изопропилового спирта, приливают 0,45 см^3 аммиака и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую баню.

Раствор используют свежеприготовленным.

6.1.7 Приготовление раствора этилового эфира уксусной кислоты и метилборной кислоты

Для приготовления раствора смешивают 0,02 см^3 метилборной кислоты и 10 см^3 этилового эфира уксусной кислоты в мерной колбе вместимостью 10 см^3.

Раствор используют свежеприготовленным.

6.1.8 Приготовление раствора гидроокиси калия молярной концентрации c = 1 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 56,1 г гидроокиси калия, растворяют в 900 см^3 деионизованной воды и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.1.9 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c = 10 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 400,0 г гидроокиси натрия, растворяют в 600 см^3 деионизованной воды и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.1.10 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c = 2 моль/дм^3

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

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

6.1.11 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации c = 0,01 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 приливают 50 см^3 деионизованной воды, 0,1 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.1.12 Приготовление 25 %-ного раствора соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 приливают 44 см^3 деионизованной воды, затем осторожно вносят 56 см^3 концентрированной соляной кислоты.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.1.13 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации c = 1 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 приливают 500 см^3 деионизованной воды, вносят 81 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.1.14 Приготовление растворов внутреннего стандарта массовой концентрации c = 0,1 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 1 мг стандартного образца дейтрированных производных, приливают 80 см^3 этанола, перемешивают и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую

баню, затем доводят объем до метки этанолом. В мерную колбу вместимостью 10 см^3 пипеточным дозатором вносят 0,1 см^3 приготовленного раствора и доводят объем до метки этанолом.

Срок хранения раствора при температуре не выше минус 18 °С — не более 12 мес.

6.1.15 Приготовление стандартного раствора C_0 бета-адреностимуляторов

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 10 мг каждого стандартного образца, приливают 80 см^3 этанола, перемешивают и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую баню, затем доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_0 должна составлять 0,1 мг/см^3.

Срок хранения раствора при температуре не выше минус 18 °С — не более 12 мес.

6.1.16 Приготовление стандартного раствора C_1 бета-адреностимуляторов

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 пипеточным дозатором вносят 0,1 см^3 стандартного раствора C_0 (6.1.15) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_1 должна составлять 1000 нг/см^3.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.1.17 Приготовление стандартного раствора C_2 бета-адреностимуляторов

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 пипеточным дозатором вносят 1 см^3 стандартного раствора C_1 (6.1.16) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_2 должна составлять 100 нг/см^3.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.1.18 Приготовление стандартного раствора C_3 бета-адреностимуляторов

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 пипеточным дозатором вносят 1 см^3 стандартного раствора C_2 (6.1.17) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_3 должна составлять 10 нг/см^3.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.1.19 Приготовление стандартного раствора C_4 бета-адреностимуляторов

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 пипеточным дозатором вносят 5 см^3 стандартного раствора C_3 (6.1.18) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_4 должна составлять 5 нг/см^3.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.1.20 Приготовление градуировочных растворов бета-адреностимуляторов

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 0,1 нг/см^3 к сухому остатку после упаривания матрицы вносят 0,02 см^3 стандартного раствора C_4 (6.1.19), приливают 0,1 см^3 раствора внутреннего стандарта (6.1.14). Затем пипеточным дозатором вносят 0,88 см^3 этанола, переносят на шейкер и гомогенизируют. Затем помещают на центрифугу и центрифугируют при 15000 об/мин в течение 10 мин при температуре 10 °С.

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 0,5 нг/см^3 используют стандартный раствор C_4 (6.1.19).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 1 нг/см^3 используют стандартный раствор C_3 (6.1.18).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 10 нг/см^3 используют стандартный раствор C_2 (6.1.17).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 100 нг/см^3 используют стандартный раствор C_1 (6.1.16).

К сухому остатку после упаривания чистой пробы исследуемого типа матриц вносят 0,1 см^3 соответствующего стандартного раствора, приливают 0,1 см^3 раствора внутреннего стандарта (6.1.14). Затем пипеточным дозатором вносят 0,8 см^3 этанола, переносят на шейкер и гомогенизируют. Затем помещают на центрифугу и центрифугируют при 15000 об/мин в течение 10 мин при температуре 10 °С.

Приготовленные градуировочные растворы и растворы внутренних стандартов хранят в морозильнике при температуре не выше минус 20 °С. Перед применением растворы выдерживают при комнатной температуре в темном месте не менее 30 мин.

6.2 Подготовка хромато-масс-спектрометра к выполнению измерений

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

6.3 Подготовка газового хроматографа к выполнению измерений

6.3.1 Подготовку газового хроматографа к работе осуществляют в соответствии с техническим руководством по эксплуатации прибора. Для получения градуировочных характеристик устанавливают параметры газового хроматографа в соответствии с 6.4.1.

6.3.2 Для получения градуировочных данных используют градуировочные растворы бета-адреностимуляторов и растворы их дейтерированных производных в соответствии с таблицей 1, внесенные в заведомо чистые пробы анализируемого типа матриц (растворы бета-адреностимуляторов и их дейтерированные производные вносят в матрицу перед этапом дериватизации). В качестве внутреннего стандарта используют дейтерированные производные определяемых бета-адреностимуляторов. Для каждого бета-адреностимулятора используется соответствующее дейтерированное производное.

Таблица 1 — Массовая концентрация бета-адреностимуляторов в градуировочных растворах

Наименование бета-адреностимулятора	Градуировочный уровень				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
	Массовая концентрация, нг/см^3				
Нативные бета-адреностимуляторы					
Кленбутерол	0,1	0,5	1	10	100
Сальбутамол	0,1	0,5	1	10	100
Мапентерол	0,1	0,5	1	10	100
Цимбутерол	0,1	0,5	1	10	100
Тербуталин	0,1	0,5	1	10	100
Изотопно-меченые бета-адреностимуляторы/внутренний стандарт					
Кленбутерол-d6	10	10	10	10	10
Сальбутамол-d6	10	10	10	10	10
Мапентерол-d11	10	10	10	10	10
Цимбутерол-d9	10	10	10	10	10
Тербуталин-d9	10	10	10	10	10

6.3.3 При установлении градуировочной характеристики используют не менее трех уровней массовой концентрации градуировочных растворов в диапазоне определяемого бета-адреностимулятора массовой концентрации от 1 до 100 нг/см^3. В инжектор хроматографа вводят каждый градуировочный раствор не менее двух раз.

С помощью компьютерной системы обработки данных устанавливают градуировочную характеристику для площади пика методом внутреннего стандарта для каждого бета-адреностимулятора.

Коэффициент отклика k_i для i-го бета-адреностимулятора рассчитывают по формуле

$$k_i = \frac{S_i M_{is}}{S_{is} M_i}, \quad (1)$$

где S_i — площадь пика i-го бета-адреностимулятора в градуировочном растворе;

M_{is} — массовая концентрация внутреннего стандарта в градуировочном растворе, нг/см^3;

S_{is} — площадь пика внутреннего стандарта в градуировочном растворе;

M_i — массовая концентрация i-го бета-адреностимулятора в градуировочном растворе, нг/см^3.

Проверяют приемлемость полученных значений коэффициента отклика k_i для каждого бета-адреностимулятора анализируемых градуировочных уровней, используя неравенство

$$\frac{K_i^{max} - K_i^{min}}{\overline{K_i}} 100 \le d_i, \quad (2)$$

где K_i^{max} — максимальное значение i-го коэффициента отклика;

K_i^{min} — минимальное значение i-го коэффициента отклика;

$\overline{K_i}$ — среднее значение i-го коэффициента отклика;

d_i — относительная разность коэффициентов отклика.

Значения d_i (P = 0,95) не должны превышать: 5 % (n = 3) или 4 % (n = 2), где n — число параллельных определений i-го коэффициента отклика для каждого градуировочного уровня.

6.3.4 При отсутствии дейтерированных производных бета-адреностимуляторов используют метод абсолютной градуировки. Градуировочные растворы бета-адреностимуляторов (не менее трех уровней массовой концентрации от 1 до 100 нг/см^3 на пробу) вносят в заведомо чистые матрицы на стадии внесения внутреннего стандарта так же, как для метода с дейтерированными производными. Каждый градуировочный уровень анализируют не менее двух раз.

6.3.5 Расчеты коэффициента отклика и площади пика выполняют с помощью системы обработки данных в автоматическом режиме.

6.3.6 Градуировочную характеристику считают приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение квадрата коэффициента корреляции для каждого бета-адреностимулятора $\geq 0{,}98$, а значение «Accuracy» для каждой точки градуировочной кривой находится в диапазоне 80 %—120 %.

6.3.7 Построение новой градуировочной кривой проводят после каждого включения газового хроматографа (остановка работы для сервисного обслуживания или текущей профилактики).

6.4 Условия хроматографических измерений

6.4.1 Газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором включают в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают параметры, рекомендуемые изготовителем капиллярных колонок. Например, для кварцевой капиллярной колонки 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм применяют следующие хроматографические условия:

- газ-носитель — гелий;
- скорость потока газа-носителя 0,8 см^3/мин;
- температура инжектора 280 °С;
- инжектор в режиме без деления потока;
- температурная программа колонки:

начальная температура 100 °С в течение 0,5 мин;
программируемый нагрев от 100 °С до 200 °С со скоростью 25,0 °С/мин;
программируемый нагрев от 200 °С до 225 °С со скоростью 4,0 °С/мин;
программируемый нагрев от 225 °С до 270 °С со скоростью 20,0 °С/мин;

- изотерма при температуре 270 °С до 20 мин;
- время анализа 20 мин;
- объем пробы от 1 до 5 мм^3.

Допускается использование других хроматографических условий, обеспечивающих разделение компонентов пробы.

6.4.2 Градуировку и настройку масс-спектрометрического детектора в режиме электронной ионизации и тандемной масс-спектрометрии проводят согласно инструкции по эксплуатации прибора.

7 Отбор проб

7.1 Отбор проб

7.1.1 Отбор проб мяса и мясных продуктов, включая мясо и продукты из мяса птицы, — по ГОСТ Р 51447.

7.1.2 Объем отбираемых проб мочи должен быть не менее 40 см^3.

Объем отбираемых проб желчи должен быть не менее 30 см^3.

Масса отбираемых проб пигментированной шерсти, не менее 10 г.

Отобранные пробы мочи и желчи при отсутствии возможности испытания в день отбора замораживают при температуре минус 20 °С.

7.1.3 Отбор проб комбикормов — по ГОСТ 13496.0.

7.2 Подготовка проб

7.2.1 Обработка проб органов, тканей, мочи, желчи, шерсти животных и кормов

7.2.1.1 100 г мышечной ткани, предварительно очищенной от грубой соединительной ткани, измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах по 10,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью по 40 см^3. Во флаконы добавляют 20 см^3 трис-буфера (6.1.1), 10 мг протеолитического фермента и пипеточным дозатором вносят по 50 мм^3 раствора дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см^3.

Флаконы закрывают крышкой с тефлоновой прокладкой и помещают на нагревательный модуль с магнитной мешалкой при температуре 55 °С на 3 ч. Затем флаконы с полученным гидролизатом охлаждают до комнатной температуры, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 5,0 хлор-

ной кислотой. Флаконы с пробами помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 20 мин при температуре 4 °С. Полученный супернатант переносят в стеклянные флаконы вместимостью по 40 см^3. Осадок повторно экстрагируют 5 см^3 фосфатного буферного раствора (6.1.2). Полученные гидролизаты объединяют, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 6,0 хлорной кислотой, помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 20 мин, фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.2 Пробу печени или почек измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах по 10,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью 40 см^3. Во флаконы добавляют по 20 см^3 фосфатного буферного раствора (6.1.2), измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 5,0 раствором гидроокиси калия (6.1.8) молярной концентрации c = 1 моль/дм^3 или 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Пипеточным дозатором вносят по 50 мм^3 смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см^3 и ставят флаконы на ультразвуковую баню на 20 мин при температуре 40 °С. Затем пробы переносят на шейкер, гомогенизируют 30 сек и охлаждают до комнатной температуры. Флаконы с пробами помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Затем во флаконы приливают 5 см^3 фосфатного буферного раствора (6.1.2), экстрагируют 30 с на шейкере и центрифугируют. Экстракты объединяют, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 5,0 раствором гидроокиси калия молярной концентрации c = 1 моль/дм^3 (6.1.8) или 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Пипеточным дозатором в экстракты вносят по 50 мм^3 пищеварительного сока Helix pomatia, помещают на нагревательный модуль с магнитной мешалкой при температуре 40 °С на 15 ч. После гидролиза пробу охлаждают до комнатной температуры, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 6,0 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Гидролизат центрифугируют и фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.3 Во флакон вносят 10 см^3 мочи, 10 см^3 ацетатного буферного раствора (6.1.4), 50 мм^3 пищеварительного сока Helix pomatia, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 5,0 раствором гидроокиси калия молярной концентрации c = 1 моль/дм^3 (7.2.8) или 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Пипеточным дозатором вносят по 50 мм^3 смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см^3 и ставят флаконы на нагревательный модуль при температуре 40 °С на 15 ч для ферментативного гидролиза коньюгатов. Гидролизат охлаждают до комнатной температуры, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 6,0 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12), фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.4 Во флакон вносят 5 см^3 желчи, 15 см^3 ацетатного буферного раствора (6.1.4), 100 мм^3 пищеварительного сока Helix pomatia. Далее проводят обработку пробы в соответствии с 7.2.3.

7.2.1.5 Сетчатку отделяют от глазного яблока, помещают во флакон вместимостью 40 см^3 и взвешивают на весах. На каждые 50 мг сетчатки добавляют 1 см^3 фосфатного буферного раствора (6.1.2). Затем гомогенизируют 30 с на гомогенизаторе конфигурации ротор-статор. Во флаконы вместимостью 40 см^3 вносят по 1 см^3 гомогенизированной пробы и добавляют по 9 см^3 ацетатного буферного раствора (6.1.4). Пипеточным дозатором вносят 50 мм^3 пищеварительного сока Helix pomatia и по 50 мм^3 смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации c = 10 нг/см^3. Закрывают флаконы крышкой с тефлоновой прокладкой и помещают на нагревательный модуль с магнитной мешалкой на 15 ч при температуре 40 °С. Полученный гидролизат охлаждают до комнатной температуры, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 6,0 раствором гидроокиси натрия молярной концентрации c = 10 моль/дм^3 (6.1.9). Флаконы с пробами помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Гидролизат фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.6 100 г кормов измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах по 10,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью 40 см^3. Во флаконы добавляют 25 см^3 соляной кислоты молярной концентрацией c = 0,01 моль/дм^3 (6.1.11). Пипеточным дозатором вносят по 50 мм^3 смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см^3. Флаконы помещают в шейкер на 30 мин, а затем центрифугируют. Надосадочный слой переносят во флакон вместимостью 40 см^3, добавляют 5 см^3 *н*-Гексана, экстрагируют два раза по 2 мин, отбрасывая гексановые фракции. Измеряют pH водного остатка и, при необходимости, доводят значение pH до 6,0 раствором гидроокиси натрия молярной концентрации c = 10 моль/дм^3 (6.1.9), помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Экстракт фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.7 10 г пигментированной шерсти промывают 0,2 %-ным водным раствором твин 20 и деионизованной водой, высушивают в сушильном шкафу при температуре 40 °С и измельчают ножницами на отрезки размером от 1 до 2 мм. Измельченную шерсть взвешивают на весах и по 1,0 г помещают в два флакона вместимостью 40 см^3. Во флаконы добавляют по 20 см^3 раствора гидроокиси натрия молярной

концентрации c = 2 моль/дм^3 (6.1.10). Затем во флаконы вносят пипеточным дозатором по 50 мм^3 смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации c = 10 нг/см^3.

Флаконы ставят на нагревательный модуль с магнитной мешалкой на 1 ч при температуре 85 °С. Затем охлаждают до комнатной температуры, добавляют 10 см^3 метил-третбутилового эфира, экстрагируют два раза по 5 мин, собирая эфирную фракцию в выпарительную колбу вместимостью 100 см^3. Для полного отделения метил-третбутилового эфира флаконы помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин. Затем во флаконы вносят по 5 г натрия хлористого, перемешивают и повторно экстрагируют дважды по 5 мин с 10 см^3 смеси этилового эфира уксусной кислоты и изопропилового спирта в соотношении 60:40. Объединенные экстракты упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. К сухому остатку приливают 10 см^3 фосфатного буферного раствора (6.1.3) и помещают на 1 мин на ультразвуковую баню. Экстракт фильтруют через мембранный фильтр.

7.3 Очистка подготовленных проб методом твердофазной экстракции (ТФЭ)

Картриджи для твердофазной экстракции вместимостью 6 см^3 с 0,5 г сорбента С18 40 мкм кондиционируют на вакуумном устройстве для ТФЭ, пропуская последовательно: 4 см^3 метанола, 1 см^3 деионизованной воды, 3 см^3 фосфатного буферного раствора молярной концентрации c = 0,1 моль/дм^3 (6.1.3). Пропускают через картридж пробу, полученную в соответствии с 7.2.1.1—7.2.1.7, в фосфатном буфере (на всех этапах ТФЭ, кроме этапов сушки, вакуум не применяют). Промывают картридж последовательно два раза фосфатным буферным раствором по 2 см^3, раствором уксусной кислоты молярной концентрации c = 1 моль/дм^3 — 1 см^3 и затем сушат картридж в вакууме 20 мин. Далее промывают картридж 2 см^3 метанола и снова сушат в вакууме 10 мин. Элюируют аналиты раствором аммиака в изопропиловом спирте (6.1.6). Упаривают элюат на ротационном испарителе при температуре не выше 45 °С. Остаток перерастворяют в 1 см^3 абсолютного этанола и переносят во флакон вместимостью 4 см^3. Упаривают этанол досуха в токе азота на нагревательном модуле при температуре от 35 °С до 40 °С не менее 1 ч.

Каждую новую партию сорбента необходимо тестировать по описанной процедуре ТФЭ. При тестировании используют стандартные растворы бета-адреностимуляторов известной молярной концентрации в фосфатном буферном растворе (6.1.3). Модифицируют только два этапа: объем метанола на стадии промывки сорбента (критично для анилиновых бета-адреностимуляторов) и объем элюирующего раствора на последней стадии (критично для бета-адреностимуляторов фенольного типа).

8 Порядок выполнения измерений

8.1 Дериватизация бета-адреностимуляторов

8.1.1 Для получения триметилсилиловых производных бета-адреностимуляторов к сухому остатку после ТФЭ очистки по 7.3 пипеточным дозатором приливают 50 мм^3 смеси МСТФА/ТМИС/ДТЭ (6.1.5). Помещают флаконы в нагревательный модуль на 60 мин при температуре 60 °С. По истечении указанного времени реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, переносят в стеклянные флаконы вместимостью 2 см^3 с вставками на 100 мм^3 и используют для ГХ-МС анализа.

8.1.2 Для двухстадийной дериватизации к сухому остатку после ТФЭ очистки, пипеточным дозатором приливают 50 мм^3 раствора метилборной кислоты в этиловом эфире уксусной кислоты (6.1.7). Полученную реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре 20 мин. По истечении указанного времени от 1 мм^3 до 2 мм^3 реакционной смеси вводят в хромато-масс-спектрометр. Получают хроматограмму циклических метилборатов.

Затем реакционную смесь упаривают досуха и к сухому остатку добавляют 50 мм^3 раствора БСТФА/ТМХС (6.1.5). Полученную реакционную смесь помещают в нагревательный модуль при температуре 60 °С на 30 мин. По истечении указанного времени реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, переносят в стеклянные флаконы вместимостью 2 см^3 с вставками на 100 мм^3 и используют для ГХ-МС анализа.

8.2 ГХ-МС анализ

8.2.1 В инжектор хроматографа вводят по 1—5 мм^3 анализируемой пробы и проводят анализ в условиях, указанных в 6.4. Проводят не менее двух определений для каждой анализируемой пробы.

8.2.2 Время удерживания бета-адреностимуляторов определяют при анализе градуировочных растворов. Время удерживания идентифицированных бета-адреностимуляторов в анализируемой пробе не должно отличаться от времени удерживания бета-адреностимуляторов в градуировочном растворе более чем на 2,5 %.

8.2.3 Данные о диагностических ионах триметилсилиловых производных бета-адреностимуляторов приведены в таблице 2.

Таблица 2 — Диагностические ионы триметилсилиловых производных бета-адреностимуляторов

Наименование бета-адреностимулятора	N	M_o	M_d	Диагностические ионы
Кленбутерол	1	276	348	86/262/243/333
Кленбутерол-d6	1	282	354	92/262/246/339
Кленбутерол	2	276	420	86/300/335/405
Кленбутерол-d6	2	282	426	92/300/335/411
Сальбутамол	3	239	455	86/294/369/440
Сальбутамол-d6	3	245	461	92/295/369/446
Тербуталин	3	225	442	86/356/371/426
Мапентерол	1	324	396	100/277/291/296
Мапентерол	2	324	468	100/364/369/453
Цимбутерол	1	233	305	86/200/219/234
Цимбутерол-d9	1	242	314	95/206/219/234
Цимбутерол	2	233	377	86/272/291/362
Цимбутерол-d9	2	242	386	95/278/291/371
Примечание — В таблице использованы следующие условные обозначения: N — число ТМС групп в молекуле производного; M_o — молекулярная масса; M_d — молекулярная масса ТМС производного.				

8.2.4 Данные о диагностических ионах метилборатов бета-адреностимуляторов приведены в таблице 3.

Таблица 3 — Диагностические ионы метилборатов бета-адреностимуляторов

Наименование бета-адреностимулятора	N	M_o	M_d	Диагностические ионы
Кленбутерол	1	276	300	243/245/285/287
Кленбутерол-d6	1	282	306	246/248/288/290
Сальбутамол	2	239	287	229/230/271/272
Сальбутамол-d6	2	245	293	232/233/274/275
Мапентерол	1	324	348	277/279/291/319
Цимбутерол	1	233	257	158/200/241/242
Цимбутерол-d9	1	242	266	159/206/247/248
Примечание — В таблице использованы следующие условные обозначения: N — число МБ-групп в молекуле производного; M_o — молекулярная масса; M_d — молекулярная масса производного.				

9 Обработка результатов ГХ-МС анализа

9.1 В соответствии с данными, полученными при анализе градуировочных растворов, оформляют таблицу пиков с использованием программного обеспечения хромато-масс-спектрометра. Метод обработки хроматограммы — внутренний стандарт.

Содержание *i*-го бета-адреностимулятора в анализируемой пробе X_i, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$X_i = \frac{S_i \cdot M_{is}}{S_{is} \cdot k_i}, \quad (3)$$

где S_i — площадь пика *i*-го бета-адреностимулятора в анализируемой пробе;
M_{is} — содержание внутреннего стандарта в анализируемой пробе, мкг/кг;
S_{is} — площадь пика внутреннего стандарта в анализируемой пробе;
k_i — коэффициент отклика для *i*-го бета-адреностимулятора.

9.1.1 Расчеты количества бета-адреностимулятора и площади пика выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

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

За результат измерений содержания *i*-го бета-адреностимулятора принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

$$\frac{|X_{i1} - X_{i2}|}{\overline{X}_i} \times 100 \le r, \quad (4)$$

где X_{i1} и X_{i2} — результаты двух параллельных определений содержания *i*-го бета-адреностимулятора, выполненных в условиях повторяемости, мкг/кг;
$\overline{X}_i$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, X_{i1} и X_{i2}, мкг/кг;
r — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 7, %.

9.1.3 Для целей количественного и подтверждающего анализа допускается проведение измерений в различных режимах тандемной масс-спектрометрии, позволяющих получить требуемое количество подтверждающих критериев. При количественном анализе допускается проведение измерения по одному, наиболее интенсивному иону в соответствии с требованиями, указанными в 8.2. Подтверждающий анализ проводят при наличии не менее четырех диагностических критериев, полученных для силилированных производных или метилборатов, в соответствии с требованиями, указанными в 8.2.

9.2 Идентификацию бета-адреностимуляторов и их количественное определение проводят с соблюдением следующих условий для масс-спектрометрического детектирования:

- молекулярный ион используют для идентификации, если он присутствует в масс-спектре с относительной интенсивностью не менее 10 %;
- относительная ионная интенсивность каждого из диагностических ионов должна быть не менее 10 %;
- соотношение сигнал/шум для каждого диагностического иона должно быть не менее 3/1.

Относительные интенсивности детектированных ионов, выраженные как процент от интенсивности самого интенсивного иона, должны соответствовать таковым из градуировочного раствора, в сопоставимых массовых концентрациях, измеренным при тех же самых условиях, в пределах максимально допустимых отклонений, указанных в таблице 4.

Таблица 4 — Максимально допустимые отклонения для относительных ионных интенсивностей

Относительная интенсивность (% от основного пика)	ЭИ-ГХ-МС (относительная), %	ГХ-МС^n (относительная),%
Св. 50	± 10	± 20
» 20 до 50 включ.	± 15	± 25
От 10 » 20 »	± 20	± 30
Менее 10	± 50	± 50

При проведении подтверждающего анализа число диагностических ионов для каждого из масс-спектрометрических методов определяют с учетом идентифицирующих критериев.

Для подтверждения каждого из бета-адреностимуляторов необходимы минимум четыре идентифицирующих критерия. В таблице 5 приведено количество идентифицирующих критериев в зависимости от используемых масс-спектрометрических методов.

Таблица 5 — Отношение между масс-спектрометрическими методами и количеством полученных идентифицирующих критериев

Масс-спектрометрические методы	Количество идентифицирующих критериев, полученных на диагностический ион
Масс-спектрометрия низкого разрешения (НР)	1,0
НР-МС^n ион предшественник	1,0
НР-МС^n дочерние ионы	1,5
Масс-спектрометрия высокого разрешения (ВР)	2,0
ВР-МС^n ион предшественник	2,0
ВР-МС^n дочерние ионы	2,5

В таблице 6 показаны примеры числа идентифицирующих критериев (n — целое число), полученных для различных масс-спектрометрических методов.

Таблица 6 — Примеры расчета идентифицирующих критериев

Методы ГХ-МС анализа	Число диагностических ионов	Количество идентифицирующих критериев
ГХ-МС (ЭИ или ХИ)	N	n
ГХ-МС (ЭИ или ХИ) 2 производных	2 (Производное А) + 2 (Производное Б)	4
ГХ-МС-МС	1 предшественник и 2 дочерних	4
ГХ-МС-МС	2 предшественника, каждый с 1 дочерним	5

10 Метрологические характеристики

Значения допускаемой относительной расширенной неопределенности U_{rel}, % (при коэффициенте охвата k = 2) измерений содержания индивидуальных бета-адреностимуляторов по установленному в настоящем стандарте методу приведены в таблице 7.

Таблица 7 — Метрологические характеристики метода

Диапазон измерений содержания бета-адреностимуляторов, мкг/кг	Относительная расширенная неопределенность (k = 2), U_{rel}, %	Предел повторяемости, при P = 0,95, n = 2 $r_{отн}$, %
От 0,10 до 1,00 включ.	25	15
Св. 1,00 » 10,00 »	15	10
» 10,00	10	5

Фактические значения расширенной неопределенности U_c, мкг/кг (при коэффициенте охвата k = 2) результатов, полученных при определении содержания индивидуальных бета-адреностимуляторов и признанных приемлемыми (8.1.2), рассчитываются по формуле (7).

11 Оформление результатов измерений

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

$$M_c = \overline{X}_{i,\,c} \pm U_c, \qquad (5)$$

где M_c — окончательный результат определения содержания бета-адреностимулятора, мкг/кг;

$\overline{X}_{i,\,c}$ — среднеарифметическое значение двух параллельных определений содержания i-го бета-адреностимулятора в анализируемой пробе, выполненных в условиях повторяемости, мкг/кг;

U_c — расширенная неопределенность (при коэффициенте охвата k = 2) определения содержания i-го бета-адреностимулятора, определяемая по формуле 7, мкг/кг.

12 Контроль точности измерений

12.1 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят не реже одного раза в пять дней. Повторно анализируют образцы для градуировки хроматографа по 6.4 и определяют коэффициенты отклика для каждого бета-адреностимулятора (два параллельных определения) в тех же условиях, в которых была установлена градуировочная характеристика. Градуировочную характеристику признают стабильной, если коэффициент отклика для каждого из двух параллельных определений отличается от значения, установленного при градуировке, не более чем на 10 %. Если градуировочная характеристика нестабильна, градуировку хроматографа проводят повторно.

12.2 Контроль смещения результатов измерений с помощью стандартных образцов проводят не реже одного раза в месяц. С использованием стандартной процедуры подготовки проб проводят анализ стандартных образцов в соответствии с разделом 7 и получают результат измерений содержания *i*-го бета-адреностимулятора ($\overline{X}_{i,\,c}$, мкг/кг). Результаты измерений признают удовлетворительными при выполнении неравенства

$$|\overline{X}_{i,\,c} - X_{i,\,a}| \le \sqrt{U_{i,\,c}^2 + U_{i,\,a}^2}, \qquad (6)$$

где $\overline{X}_{i,\,c}$ — содержание *i*-го бета-адреностимулятора в анализируемом стандартном образце, мкг/кг;

$X_{i,\,a}$ — аттестованное значение содержания *i*-го бета-адреностимулятора в стандартном образце, мкг/кг;

$U_{i,\,c}$ — расширенная неопределенность (при коэффициенте охвата $k = 2$) результата измерений содержания *i*-го бета-адреностимулятора, полученного при соблюдении требований настоящего стандарта, мкг/кг, рассчитываемая по формуле:

$$U_{i,\,c} = 0{,}12\,\overline{X}_{i,\,c}^{0{,}71}, \qquad (7)$$

где $U_{i,\,c}$ — расширенная неопределенность (при коэффициенте охвата $k = 2$) аттестованного содержания *i*-го бета-адреностимулятора в аттестованном стандартном образце в соответствии с паспортом (сертификатом) на конкретный стандартный образец, мкг/кг.

13 Требования безопасности

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

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

12.3 Операции по приготовлению и дозированию градуировочных растворов следует проводить под тягой в вытяжном шкафу.

13.4 При проведении испытаний следует соблюдать ГОСТ 12.2.085 и [1].

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

13.6 К выполнению измерений методом газовой хроматографии допускаются лица, владеющие техникой ГХ-МС и изучившие инструкции по эксплуатации применяемой аппаратуры.

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 664.002.3:001.4:006.34 ОКС 65.120, 67.050 Н09 Н19 Н11 ОКСТУ 9101 9709

Ключевые слова: пищевые продукты, корма, продовольственное сырье, бета-адреностимуляторы (содержание), газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектором

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *В.Е. Нестерова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 17.11.2011. Подписано в печать 06.12.2011. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,85. Тираж 171 экз. Зак. 1199.

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