

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЦЕНТР КАЧЕСТВА И
СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ
И КОРМОВ»
ФГБУ «ВГНКИ»



Методические указания

МУ А-1/137

УТВЕРЖДЕНО
Заместитель директора
ФГБУ «ВГНКИ»

А.В. Третьяков



« 26 » сентября 2024 г.

Док. (матрица) от 24.06.2024 № 23)

Методика (метод) измерений

**Методические указания по определению остаточного содержания
азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в пищевой продукции
методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-
спектрометрическим детектированием**

Аттестована:

ФГБУ «ВГНКИ»

*(наименование организации,
осуществлявшей аттестацию
методики)*

Регистрационный номер
в Информационном фонде по
обеспечению единства измерений

99.1.31.2024.49531

г. Москва

2024

СВЕДЕНИЯ О РАЗРАБОТКЕ

РАЗРАБОТАНО: А. Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов».
Б. Институтом молекулярной тераностики Научно-технологического парка биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

(наименование инициатора разработки)

ИСПОЛНИТЕЛЬ: А. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов».
Б. Институт молекулярной тераностики Научно-технологического парка биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

(полное наименование организации-разработчика)

А. 123022, г. Москва, Звенигородское ш., 5.

Б. 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

(почтовый адрес организации-разработчика)

А. тел.: +7 (495) 982-50-84, +7 (499) 253-14-91;

E-mail: vgnki@fsvps.gov.ru

Б. Тел: +7 (495) 609-14-00;

E-mail: nosyrev_a_e@staff.sechenov.ru

Руководитель организации-разработчика:

А. Антонов Евгений Вячеславович

(фамилия, имя, отчество)

Б. Носырев Александр Евгеньевич

(фамилия, имя, отчество)

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

АТТЕСТОВАНА: федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов».

(полное наименование юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений)

Уникальный номер записи об аккредитации в реестре аккредитованных лиц юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений: РОСС RU.0001.310354

Свидетельство об аттестации методики измерений: РОСС RU.0001.310354-0123/2024
(номер свидетельства и дата его оформления)

Руководитель юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений: Антонов Евгений Вячеславович
(фамилия, имя, отчество)

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

Регистрационный код методики измерений по Федеральному реестру

99.1.31.2024.49531

СВЕДЕНИЯ О ТОМ, ЧТО МЕТОДИКА (МЕТОД) ИЗМЕРЕНИЙ ВВОДИТСЯ ВПЕРВЫЕ:

ВВЕДЕН (А) ВПЕРВЫЕ.

Содержание

1 Назначение и область применения	1
2 Нормативные ссылки	2
3 Требования к показателям точности измерения	6
4 Требования к средствам измерений, вспомогательному оборудованию, материалам, реактивам	10
5 Метод измерений	13
6 Требования безопасности и охрана окружающей среды	13
7 Требования к квалификации операторов	14
8 Требования к условиям измерений	14
9 Отбор и хранение проб	14
10 Подготовка к выполнению измерений	15
11 Выполнение измерений	28
12 Обработка результатов измерений	28
13 Оформление результатов измерений	29
14 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности	30
15 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории	35
16 Библиография	39

1 Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает методику измерений массовой доли азитромицина, китасамицина, тилдипирозина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием и предназначен для организаций и учреждений, независимо от их организационно-правовой формы, осуществляющих контроль безопасности, а также мониторинг пищевой продукции и продукции животноводства по остаточному содержанию лекарственных средств.

Настоящая методика распространяется на переработанную и непереработанную пищевую продукцию животного происхождения: продукты убоя и мясную продукцию, жир, шпик, сливочное масло, продукты убоя сельскохозяйственной птицы и продукцию их переработки, яйца птицы и продукты их переработки, молоко и молочную продукцию, мед, продукты на его основе, пищевую рыбную продукцию животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры, и устанавливает метод определения остаточного содержания азитромицина, китасамицина, тилдипирозина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС).

Методика измерений входит в состав Методических указаний по определению остаточного содержания азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в пищевой продукции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Диапазоны измерений массовой доли азитромицина, китасамицина, тилдипирозина представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Диапазоны измерений массовой азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в различных матрицах

Соединение	Диапазон измерения в образцах мяса, иных продуктов убоя (включая жир, шпик; за исключением субпродуктов) и мясной продукции из всех видов убойных животных и птиц, рыбы и рыбной продукции, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Диапазон измерения в образцах субпродуктов всех видов убойных животных и птиц, яиц и яичных продуктов, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Диапазон измерения в образцах молока и молочных продуктов (включая сливочное масло), млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Диапазон измерения в образцах меда и продуктов на его основе, млрд ⁻¹ (мкг/кг)
Азитромицин	от 1 до 160 включ.	от 10 до 1600 включ.	от 1 до 160 включ.	от 1 до 160 включ.
Тилдипирозин	от 1 до 160 включ.	от 10 до 1600 включ.	от 1 до 160 включ.	от 1 до 160 включ.
Китасамицин	от 1 до 160 включ.	от 10 до 1600 включ.	от 1 до 160 включ.	от 1 до 160 включ.

2 Нормативные ссылки

В настоящей методике измерений использованы ссылки на следующие документы в области стандартизации:

OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 12.0.004-2015 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

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

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

ГОСТ 12.1.019–2017 ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.2.007.0-75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

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

ГОСТ 12.4.021-75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

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

ГОСТ 19792-2017 Мед натуральный. Технические условия

ГОСТ 20235.0-74 Мясо кроликов. Методы отбора образцов. Органолептические методы определения свежести

ГОСТ 26809.1–2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

ГОСТ 26809.2–2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты

ГОСТ 27752-88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия ГОСТ 28311-89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 29245–91 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей

ГОСТ 31339–2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила

ГОСТ 31467–2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ 31654–2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия

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

ГОСТ 32951-2014 Полуфабрикаты мясные и мясосодержащие. Общие технические условия

ГОСТ 33790–2016 Кишки и мочевые пузыри говяжьи. Технические условия

ГОСТ 33791–2016 Кишки и мочевые пузыри свиные. Технические условия

ГОСТ 34037-2016 Упаковка стеклянная для химических реактивов и особо чистых химических веществ. Общие технические условия

ГОСТ 4288-76 Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса. Правила приемки и методы испытаний

ГОСТ 4814-57 Блоки мясные замороженные. Технические условия

ГОСТ 5848-73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 6995-77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия ГОСТ 7269-2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 7269–2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести

ГОСТ 7636–85 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа

ГОСТ 8285-91 Жиры животные топленые. Правила приемки и методы испытания

ГОСТ 8756.0-70 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию

ГОСТ 9792-73 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ ISO 5555-2016 Жиры и масла животные и растительные. Отбор проб

ГОСТ Р 51447-99 Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

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

ГОСТ Р 54704-2011 Блоки из жилованного мяса замороженные. Общие технические условия

ГОСТ Р 57901-2017 Яйца куриные пищевые повышенного качества. Технические условия

ГОСТ Р ИСО 21748-2012. Статистические методы. Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений

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

ТУ 6-09-06-1092-83 Ацетонитрил ОСЧ (особо чистый)

ФС.2.2.0020.18 Вода очищенная

Примечание – При пользовании настоящим документом на методику измерений целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или 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 ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим документом на методику измерений 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 Требования к показателям точности¹ измерения

Настоящие методические указания имеют показатели точности и обеспечивает получение результатов измерений массовой доли азитромицина, тилдипирозина, китасамицина с погрешностью, не превышающей значений, приведенных в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели точности методики (значения относительной расширенной неопределенности результатов измерений, относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости)

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ¹ (мг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности [*] , $\pm U$, % при коэффициенте охвата $k=2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости), σ_v , %	Предел повторяемости, r , % (при $P=0,95$, $n=2$)
Азитромицин					
Мясо, иные продукты убоя (за исключением субпродуктов), мясная продукция из	От 1,0 до 20 включ.	35	17	18	47
	Св. 20 до 160 включ.	20	10	10	28

¹ В соответствии с ГОСТ Р 8.563-2009 (п. 3.4) в качестве показателя точности использованы показатели неопределенности измерений

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности*, $\pm U$, % при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Предел повторяемости, r , % (при $P = 0,95$, $n = 2$)
всех видов убойных животных и птиц, рыба и рыбная продукция					
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц, яйца и яичные продукты	От 10 до 200 включ.	35	13	18	32
	Св 200 до 1600 включ.	30	11	13	30
Молоко и молочные продукты	От 1,0 до 20 включ.	35	15	16	42
	Св. 20 до 160 включ.	24	9	11	25
Мед и продукты на его основе	От 1,0 до 20 включ.	35	14	18	39
	Св. 20 до 160 включ.	22	10	10	28
Шпик, жар, сливочное масло	Св. 1,0 до 160 включ.	22	4	8	11
Тилдинпрозин					
Мясо, иные	От 1,0 до 20	40	16	19	44

Объект	Диапазон измерений массовой доли, мкг/кг ¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности*, $\pm U$, % при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости), σ_v , %	Предел повторяемости, r , % (при $P = 0,95$, $n = 2$)
продукты убоя (за исключением субпродуктов), мясная продукция из всех видов убойных животных и птиц, рыба и рыбная продукция	включ.				
	Св. 20 до 160 включ.	25	12	13	33
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц, яйца и яичные продукты	От 10 до 200 включ.	40	14	19	39
	Св 200 до 1600 включ.	30	12	15	33
Молоко и молочные продукты	От 1,0 до 20 включ.	40	18	19	50
	Св. 20 до 160 включ.	24	6	11	17
Мед и продукты на его основе	От 1,0 до 20 включ.	40	15	19	42
	Св. 20 до 160	25	10	12	28

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности*, $\pm U$, % при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_p , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости), σ_w , %	Предел повторяемости, r , % (при $P = 0,95$, $n = 2$)
	включ.				
Шпик, жир, сливочное масло	Св. 1,0 до 160 включ.	22	4	9	11
Китасамицин					
Мясо, иные продукты убоя (за исключением субпродуктов), мясная продукция из всех видов убойных животных и птиц, рыба и рыбная продукция	От 1,0 до 20 включ.	40	17	18	47
	Св. 20 до 160 включ.	30	14	15	39
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц, яйца и яичные продукты	От 10 до 200 включ.	40	19	20	53
	Св. 200 до 1600 включ.	30	12	16	33
Молоко и	От 1,0 до 20	40	16	19	44

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности*, $\pm U$, % при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_p , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости), σ_w , %	Предел повторяемости, r , % (при $P = 0,95$, $n = 2$)
молочные продукты	включ.				
	Св. 20 до 160 включ.	25	10	11	28
Мед и продукты на его основе	От 1,0 до 20 включ.	40	17	19	47
	Св. 20 до 160 включ.	25	10	13	28
Шпик, жир, сливочное масло	Св. 1,0 до 160 включ.	22	4	8	11
* - соответствует характеристикам погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$					

Значения показателя точности (расширенной неопределенности) методики используют при:

- оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;
- оценке деятельности лабораторий на качество проведения измерений;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики измерений в лаборатории

4 Требования к средствам измерений, вспомогательному оборудованию, материалам, реактивам

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы.

4.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование

4.1.1 Масс-спектрометр с гибридным квадрупольным анализатором с диапазоном измерений m/z от 5 до 1200 «6500 QTRAP» (AB SCIEX, Канада, США) и компьютером с установленным программным обеспечением Analyst 1.6.1 (AB SCIEX, Канада, США), номер в Государственном реестре средств измерений № 58075-14.

4.1.2 Система высокоэффективной жидкостной хроматографии, состоящая из бинарного насоса со смесителем, термостата хроматографической колонки, обеспечивающего температуру нагрева до $(50,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$.

4.1.3 Колонка хроматографическая обращенно-фазная длиной не менее 150 мм, с диаметром частиц сорбента не более 5,0 мкм.

4.1.4 Компьютер с установленным программным обеспечением.

4.1.5 Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

4.1.6 Весы специального (I) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с поверочным интервалом (e) не более 1 мг и действительной ценой деления (d) не более 0,1 мг (например: Discovery DV214C (Ohaus, Швейцария), номер в госреестре 33646-06).

4.1.7 Весы высокого (II) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с поверочным интервалом (e) не более 0,1 г и действительной ценой деления (d) не более 0,01 г (например: EK-300i (A&D Company, Япония), номер в госреестре 25313-06).

4.1.9 Дозаторы механические автоматические переменной вместимости $(2 - 20) \text{ мм}^3$, $(10 - 100) \text{ мм}^3$, $(100 - 1000) \text{ мм}^3$, $(500 - 5000) \text{ мм}^3$ по ГОСТ 28311.

4.1.10 Бутыль стеклянная БВ-1000 по ГОСТ 34037.

4.1.11 Пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см^3 с завинчивающимися крышками.

4.1.12 Виалы (флаконы) стеклянные вместимостью 2 см^3 с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками 9 мм.

4.1.13 Картриджи для твердофазной экстракции вместимостью не менее 3 см^3 , заполненные сорбентом на основе сополимера дивинилбензола и

винилпирролидона, с частицами диаметром не более 50 мкм, массой 60 мг. (например, патроны для SPE Oasis HLB²)

4.1.14 Модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования не менее 40 °С.

4.1.15 Центрифуга лабораторная рефрижераторная со скоростью вращения не менее 4000 об/мин и диапазоном задаваемых температур от 4 °С до 20 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15 см³.

4.1.16 Баня ультразвуковая с рабочей частотой не менее 20 Гц и объемом не менее 1 дм³.

4.1.17 Микроцентрифуга лабораторная рефрижераторная со скоростью вращения не менее 15000 об/мин и диапазоном задаваемых температур от 4 °С до 20 °С, с адаптерами для микроцентрифужных пробирок вместимостью 1,5 см³.

4.1.18 Встряхиватель (шейкер) вибрационный для пробирок орбитального типа движения с амплитудой встряхивания не менее 3 мм и диапазоном скоростей от 150 до 2500 об/мин.

4.1.19 Система получения деионизированной воды высокой чистоты.

4.1.20 Холодильник бытовой с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от 0 °С до 5 °С.

4.1.21 Камера лабораторная морозильная с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от минус 15 °С до минус 25 °С.

4.1.22 Фильтры нейлоновые мембранные с размером диаметра пор не более 0,2 мкм.

4.1.23 Микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 и 2 см³.

4.1.24 Вакuumное устройство для твердофазной экстракции.

4.1.25 Гомогенизатор лабораторный.

4.2 Реактивы, материалы

² Расходный материал является рекомендуемым к применению. Эта информация приведена для удобства пользователей МУ.

- 4.2.1 метанол по ГОСТ 6995 , квалификация "х.ч.",
- 4.2.2 ацетонитрил по ТУ 6-09-06-1092-83, квалификация "х.ч.",
- 4.2.3 азитромицин, доля основного вещества не менее 90%,
- 4.2.4 тилдипирозин, доля основного вещества не менее 90%,
- 4.2.5 китасамицин, доля основного вещества не менее 90%,
- 4.2.6 азитромицин-ДЗ, доля основного вещества не менее 90%,
- 4.2.7 Na_2SO_4 , квалификация "х.ч.",
- 4.2.8 NaCl , квалификация "х.ч.",
- 4.2.9 Обращенно-фазный сорбент C_{18} .

Примечание 1 – допускается применение стандартных образцов веществ с отличными от приведенных выше содержаниями основного вещества (при приготовлении точных концентраций исходных растворов стандартных образцов выполняют пересчет массы навески стандартного образца на чистое вещество по формуле 1).

Примечание 2 – допускается применение других средств измерений и вспомогательного оборудования с метрологическими и техническими характеристиками не хуже приведенных выше.

5 Метод измерений

Измерения содержания лекарственных средств выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Детектирование анализируемых веществ проводят в режиме мониторинга выбранных реакций (*MRM*).

Используя полученные с применением метода внутреннего стандарта градуировочные характеристики, по площади пиков идентифицированных соединений находят их количественное содержание.

6 Требования безопасности и охрана окружающей среды

Используемые в работе реактивы содержат вещества, относящиеся к 1 и 2 классам опасности, при работе с ними необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

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

Операции по приготовлению и использованию градуировочных растворов аналитов и их изотопно-меченых аналогов следует проводить в вытяжном шкафу.

В связи с тем, что при работе на масс-спектрометре используются сжатые газы, следует соблюдать правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением по ГОСТ 12.2.085.

При выполнении измерений на масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.2.007.0 и инструкцией по эксплуатации прибора.

7 Требования к квалификации операторов

К операциям по подготовке проб и проведению измерений методом масс-спектрометрии допускают лиц, прошедших соответствующее обучение и освоивших настоящую методику измерений.

8 Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

температура воздуха, °С (20 ± 5),

атмосферное давление, мм рт.ст. (630 – 800),

относительная влажность воздуха, % (20 – 80).

Хроматографические измерения проводят в условиях, приводимых в инструкции по эксплуатации прибора.

9 Отбор и хранение проб

9.1. Отбор проб мяса, мясных продуктов, субпродуктов, шпика со шкурой и без шкуры, – по ГОСТ 7269, ГОСТ 32951, ГОСТ Р 51447, ГОСТ 20235.0, ГОСТ 4814, ГОСТ Р 54704, мясных полуфабрикатов – по ГОСТ

32951, кулинарных изделий и полуфабрикатов из рубленого мяса – по ГОСТ 4288.

9.2. Отбор проб мяса птицы, пищевых субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы – по ГОСТ 31467.

9.3. Отбор проб колбасных изделий и продуктов из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц – по ГОСТ 9792, консервов – по ГОСТ 8756.0.

9.4. Отбор проб кишечного сырья – по ГОСТ 33790, ГОСТ 33791

9.5 Отбор проб яиц – по ГОСТ 31654, яичных продуктов – по ГОСТ 31720.

9.6 Отбор проб молока и молочной продукции – по ГОСТ 26809.1.

9.7 Отбор проб молочной продукции – по ГОСТ 26809.2.

9.8. Отбор проб консервов молочных – по ГОСТ 29245.

9.9. Отбор проб продуктов переработки животных жиров – по ГОСТ ISO 5555, ГОСТ 8285.

9.10. Отбор проб рыбной продукции из рыбы и водных беспозвоночных – по ГОСТ 31339, ГОСТ 7636.

9.11. Отбор проб мёда по ГОСТ 19792.

9.12. Отбор проб производится в соответствии с указанными выше документами, а также иными нормативными документами, регламентирующими процедуру отбора проб объектов исследования, действующих и утвержденных, в соответствии с национальным законодательством.

9.13. Отобранные пробы, при отсутствии возможности испытаний в день отбора, хранят при условиях, указанных изготовителем в течение периода, не превышающего срок годности продукции, установленный изготовителем.

Отобранные пробы, при отсутствии возможности испытаний в день доставки в лабораторию, хранят при условиях, указанных изготовителем в

течение периода, не превышающего срок годности продукции или при -18°C (кроме сухих и сыпучих) до трёх месяцев, но не более срока годности.

10 Подготовка к выполнению измерений

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы.

10.1 Приготовление растворов

10.1.1 Приготовление подвижной фазы А

В бутылку вместимостью 1000 см^3 с помощью мерного цилиндра отбирают 995 см^3 деионизованной воды и вносят 5 мл муравьиной кислоты. Раствор перемешивают до полного растворения вещества, дегазируют на ультразвуковой бане (4.1.16) в течение 5 мин.

Срок хранения раствора – 1 месяц.

10.1.2 Приготовление подвижной фазы Б

В бутылку вместимостью 1000 см^3 с помощью мерного цилиндра отбирают 995 см^3 метанола и вносят 5 мл муравьиной кислоты. Раствор перемешивают до полного растворения вещества, дегазируют на ультразвуковой бане (4.1.16) в течение 5 мин.

Срок хранения раствора – 1 месяц.

10.1.3 Приготовление рабочих растворов

10.1.3.1 Приготовление исходных растворов стандартных образцов азитромицина, тилдипирозна, китасамицина (С₀) с массовой концентрацией 1000 мкг/см^3

На весах (4.1.6) взвешивают 8,0-12,0 мг стандартных образцов и переносят в отдельную полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3 . В пробирку весовым методом добавляют метанол, масса которого рассчитывается по формуле (1):

$$m_p = \frac{m \cdot M_a \cdot P_a \cdot \rho}{M_c \cdot 100 \cdot C}, \quad (1)$$

где m_p – масса метанола, г;

m – масса стандартного образца, г;

M_a – молярная масса чистого вещества, г/моль;

M_c – молярная масса соли стандартного образца, г/моль;

P_2 – степень чистоты стандартного образца, %;

ρ – плотность метанола, г/см³;

C – концентрация раствора C_0 , г/см³.

Плотность метанола (ρ) (указывают) в зависимости от температуры воздуха в помещении в соответствии с таблицей 5

Таблица 5 – Зависимость плотности метанола от температуры воздуха в помещении

Температура воздуха, °С	Плотность метанола (ρ), г/см ³
15,0	0,7961
15,5	0,7956
16,0	0,7952
16,5	0,7947
17,0	0,7942
17,5	0,7938
18,0	0,7933
18,5	0,7928
19,0	0,7924
19,5	0,7919
20,0	0,7914
20,5	0,7909
21,0	0,7905
21,5	0,7900
22,0	0,7895
22,5	0,7891
23,0	0,7886
23,5	0,7881
24,0	0,7877
24,5	0,7872

Температура воздуха, °С	Плотность метанола (ρ), г/см ³
25,0	0,7867
25,5	0,7862
26,0	0,7858
26,5	0,7853
27,0	0,7848
27,5	0,7844
28,0	0,7839
28,5	0,7834
29,0	0,7829
29,5	0,7825
30,0	0,7820

Условия хранения минус 20 °С

Срок хранения – 1 год

10.1.3.2 Приготовление раствора (C₁) с массовой концентрацией аналитов в растворе 10 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают 0,1 см³ из каждого раствора C₀ в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Условия хранения минус 20 °С

Срок хранения – 3 месяца

10.1.3.3 Приготовление раствора (C₂) с массовой концентрацией аналитов в растворе 1 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают 1,0 см³ раствора C₁ в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Условия хранения минус 20 °С

Срок хранения – 1 месяц

10.1.3.4 Приготовление раствора (C₃) с массовой концентрацией аналитов в растворе 0,1 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают $1,0 \text{ см}^3$ раствора C_2 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3 , доводят до метки метанолом и перемешивают.

Срок хранения – 1 день

10.1.3.5 Приготовление исходного раствора внутреннего стандарта азитромицина-Д3 (D_0) с массовой концентрацией 1000 мкг/см^3

На весах (п 4.1.6) взвешивают $8,0\text{-}12,0 \text{ мг}$ внутренних стандартов аналита и переносят в полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3 . В пробирку весовым методом добавляют растворитель - метанол, масса которого рассчитывается по формуле (1).

Условия хранения минус $20 \text{ }^\circ\text{C}$

Срок хранения – 1 год

10.1.3.6 Приготовление раствора внутренних стандартов (D_1) с массовой концентрацией аналитов в растворе 10 мкг/см^3

Дозатором переменного объема отбирают по $0,1 \text{ см}^3$ растворов D_0 в мерную пробирку вместимостью 10 см^3 , доводят до метки метанолом и перемешивают.

Условия хранения минус $20 \text{ }^\circ\text{C}$

Срок хранения – 1 год

10.1.3.7 Приготовление раствора внутренних стандартов (D_2) с массовой концентрацией аналитов в растворе 1 мкг/см^3

Условия хранения минус $20 \text{ }^\circ\text{C}$

Срок хранения – 1 месяц

10.1.4 Приготовление градуировочных растворов $G_1 - G_5$

10.1.4.1 Приготовление образцов мышечной ткани, молока и меда с концентрацией аналитов 160 нг/см^3 (G_5)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0 \text{ г}$ образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,05 \text{ см}^3$ раствора D_2 (10.1.3.7) и $0,16 \text{ см}^3$

раствора C_2 (10.1.3.3), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 день.

10.1.4.2 Приготовление образцов мышечной ткани, молока и меда с концентрацией аналитов 80 нг/см^3 (G4)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0\text{ г}$ образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,05\text{ см}^3$ раствора D_2 (10.1.3.7) и $0,08\text{ см}^3$ раствора C_2 (10.1.3.3), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 день.

10.1.4.3 Приготовление образцов мышечной ткани, молока и меда с концентрацией аналитов 20 нг/см^3 (G3)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0\text{ г}$ образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,05\text{ см}^3$ раствора D_2 (10.1.3.7) и $0,02\text{ см}^3$ раствора C_2 (10.1.3.3), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 день.

10.1.4.4 Приготовление образцов мышечной ткани, молока и меда с концентрацией аналитов 5 нг/см^3 (G2)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0\text{ г}$ образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,05\text{ см}^3$ раствора D_2 (10.1.3.7) и $0,05\text{ см}^3$ раствора C_3 (10.1.3.4), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С 1 день.

10.1.4.5 Приготовление образцов мышечной ткани, молока и меда с концентрацией аналитов 1 нг/см³ (G1)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ (10.1.3.7) и 0,01 см³ раствора C₃ (10.1.3.4), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С 1 день.

10.1.4.6 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и яичных продуктов 1600 нг/мл (L5)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ (10.1.3.7) и 0,16 см³ раствора C₁ (10.1.3.2), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С 1 день.

10.1.4.7 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и яичных продуктов с концентрацией аналитов 800 нг/см³ (L4)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ (10.1.3.7) и 0,08 см³ раствора C₁ (10.1.3.2), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С 1 день.

10.1.4.8 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и яичных продуктов 200 нг/мл (L3)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым анализом (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ (10.1.3.7) и 0,02 см³ раствора C₁ (10.1.3.2), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С 1 день.

10.1.4.9 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и яичных продуктов с концентрацией анализом 50 нг/мл (L2)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым анализом (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ (10.1.3.7) и 0,05 см³ раствора C₂ (10.1.3.3), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С 1 день.

10.1.4.10 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и яичных продуктов с концентрацией анализом 10 нг/см³ (L1)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым анализом (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ (10.1.3.7) и 0,01 см³ раствора C₂ (10.1.3.3), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.1.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С 1 день.

10.2 Подготовка прибора к измерениям

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

10.2.1 Параметры настройки жидкостного хроматографа

температура колонки 40 °С;

скорость потока подвижной фазы 0,2 см³/мин;

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования: в начальный момент и до 1,0 мин элюирование в 100 %-ной мобильной фазе А, с 1,0 по 11,0 мин градиентное элюирование к 95 %-ной мобильной фазе Б, с 11,0 по 11,1 мин переход к элюированию в 100%-ной мобильной фазе А, с 11,10 по 20,0 мин уравнивание колонки в 100%-ной мобильной фазе А.

10.2.2 Параметры настройки масс-спектрометрического детектора

Таблица 6 – Параметры в режиме MRM в условиях электрораспыления

№	Определяемое вещество	Ион-предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия столкновений, эВ / Потенциал на выходе из ячейки, В
1	Азитромицин	749,4	591,5 ^{1*}	120	43/9
			158,2 ²	80	48/25
2	Тилдипиразин	734,5	561,5 ¹	70	45/13
			174,2 ²	70	49/13
3	Китасамицин	772,2	174,2 ¹	80	40/10
			109,2 ²	150	37/13
4	Азитромицин – ДЗ	752,7	594,5	100	39/27

* – 1 ион для количественного определения; 2 – ион для подтверждения правильности определяемого соединения.

Напряжение на зонде (IS):

4500 В для положительного режима регистрации ионов;

Разрешение квадруполей Q1/Q3: единичное;

Поток газа для фрагментации (CAD): medium.

10.3 Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику строят заново перед каждой новой серией измерений. Для нахождения градуировочной характеристики используют не менее четырех градуировочных растворов.

Процедура приготовления градуировочных растворов описана в разделе 10.1.4. Для приготовления проводят обработку "чистых" проб (бланков) согласно разделу 10.4, не содержащих действующих веществ, к которым перед обработкой добавляют раствор внутренних стандартов и рабочий раствор аналитов в количестве, необходимом для получения массовых концентраций в соответствующих пределах (10.1.4).

Градуировочную зависимость строят с помощью программы «Analyst» в координатах «отношение площади пика определяемого вещества к площади пика внутреннего стандарта» – «отношение концентрации определяемого вещества в градуировочном растворе к концентрации внутреннего стандарта», при этом в программе указывают концентрации стандартов и внутреннего стандарта согласно Таблицам 7 и 8.

Таблица 7 – концентрации стандарта и внутреннего стандарта для занесения в программу обсчета для образцов мышечной ткани, молока и меда

Градуировочный раствор	Концентрация внутреннего стандарта в градуировочном растворе (нг/см ³)	Концентрация стандарта в градуировочном растворе (нг/см ³)
G1	50	1
G2	50	5
G3	50	20
G4	50	80
G5	50	160

Таблица 8 – концентрации стандарта и внутреннего стандарта для занесения в программу обсчета для образцов субпродуктов, яиц и яичных продуктов

Градуировочный раствор	Концентрация внутреннего стандарта в градуировочном растворе (нг/см ³)	Концентрация стандарта в градуировочном растворе (нг/см ³)
G1	50	10
G2	50	50

G3	50	200
G4	50	800
G5	50	1600

При построении градуировочной зависимости используют линейную регрессию, коэффициент корреляции должен быть не менее 0,98.

Для нахождения градуировочной характеристики анализируют градуировочные растворы. Подвижную фазу, реагенты и матрицу предварительно проверяют на наличие исследуемых аналитов или других соединений, мешающих определению.

10.4 Подготовка проб

10.4.1 Подготовка проб мяса, мясных продуктов, субпродуктов и иных продуктов убоя всех видов убойных животных и птиц, рыбы и рыбопродукции, молока и молочных продуктов.

Пробы от продуктов убоя и мясной продукции предварительно освобождают от костей, хрящей, грубой соединительной ткани, снимают оболочку с изделий и по возможности освобождают от обсыпки, начинки и других ингредиентов, в том числе не мясных компонентов, после чего тщательно измельчают на мясорубке дважды и/или гомогенизируют.

Подготовку мяса птицы, пищевых субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы проводят по ГОСТ 31467 (раздел 6).

Подготовку проб кулинарных изделий и полуфабрикатов из рубленого мяса проводят по ГОСТ 4288 (пункт 2.4.2).

Подготовку проб топленых жиров проводят по ГОСТ 8285 (пункт 2.1.7).

Подготовку проб рыбы проводят по ГОСТ 7636 (пункт 2.1), водных беспозвоночных – по ГОСТ 7636 (пункт 2.9).

Подготовку проб молока и молочных продуктов проводят по ГОСТ 26809.1 (раздел 6). Сухие молочные продукты восстанавливают по ГОСТ

29245 (пункт 3.4). Концентрированное молоко разводят деионизированной водой по ГОСТ 29245 (пункт 3.3).

Подготовку проб молочной продукции проводят по ГОСТ 26809.2 (пункт 5.3.25).

100 г пробы измельчают на гомогенизаторе и взвешивают по 1,0 г гомогенизированной ткани в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см³ результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака. С помощью пипеточного дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ рабочего раствора внутренних стандартов D2 (10.1.3.7), помещают пробирку в шейкер для перемешивания в течение 1-2 мин и выдерживают в темноте при комнатной температуре 10 мин. Добавляют к пробе 4 см³ ацетонитрила, помещают пробирку на 15 мин в шейкер. Затем центрифугируют при скорости вращения 4000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4°C. Переливают надосадочную жидкость в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ и упаривают остаток до 0,2 см³ в токе азота при 40°C.

Полученный экстракт очищают методом твердофазной экстракции (ТФЭ) на картридже. Перед нанесением экстракта, картридж последовательно кондиционируют 2 см³ метанола и уравнивают 2 см³ воды. Затем пропускают через картридж полученный экстракт (при процедуре очищения вакуум или избыточное давление не применяют). Затем промывают картридж 2 см³ деионизированной воды. Колонку сушат под вакуумом, созданным с помощью водоструйного насоса в течение 10 мин. Элюируют анализируемые соединения с помощью 3 см³ метанола в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³. Пробирку помещают в термостатируемый нагревательный модуль с системой отдувки растворителей и упаривают до 0,2 см³ в токе азота при температуре 40°C.

Полученный остаток доводят до 1 см³ фазой А (10.1.1). Экстракт фильтруют и с помощью пипеточного дозатора переносят в виалу для автосамплера жидкостного хроматографа. Полученный раствор используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

10.4.2 Подготовка проб яичного порошка

Подготовка проб яичных продуктов проводится по ГОСТ 31720-2012 (подраздел 4.3). Отобранную пробу яичного порошка перед анализом тщательно перемешивают и взвешивают 1,0 г в полипропиленовой пробирке. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см³ раствора внутренних стандартов D2 (10.1.3.7). Далее обработку пробы и подготовку к хроматографированию проводят по 10.4.1.

10.4.3 Обработка проб яиц и меланжа

Яйца отделяют от скорлупы и тщательно перемешивают на гомогенизаторе до однородной массы. Подготовка проб яичных продуктов – по ГОСТ 31720-2012 (подраздел 4.3). Взвешивают 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см³ раствора внутренних стандартов D2 (10.1.3.7). Далее обработку пробы и подготовку к хроматографированию проводят по 10.4.1.

10.4.4 Подготовка проб меда

Подготовка проб меда и продуктов на его основе – по ГОСТ 19792–2017 (подраздел 7.2). Отобранную пробу меда тщательно перемешивают. Взвешивают 1,0 г пробы в полипропиленовой пробирке, добавляют 4 см³ деионизированной воды, помещают пробирку в шейкер на 15 минут. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см³ раствора внутренних стандартов D2 (10.1.3.7) и перемешивают. Полученный экстракт наносят на картриджи и очищают методом ТФЭ согласно 10.4.1.

10.4.5 Пробоподготовка образцов жира, шпика и сливочного масла

Берут навеску гомогенизированного образца $0,50 \pm 0,05$ г и переносят в пластиковый фалькон на 15 см³, добавляют 25 мм³ внутреннего стандарта с концентрацией 10000 нг/ см³ и выдерживают в темном месте 20 мин. Добавляют 0,5 см³ воды и 2 см³ ацетонитрила, перемешивают на вортексе 1 мин. Добавляют 350 мг MgSO₄ и 100 мг NaCl, встряхивают и помещают в ультразвуковую баню на 30 мин при 30°C. Центрифугируют в течении 10 мин при 17000g. Отбирают 1,5 см³ надосадочной жидкости в эппендорф на 2

см³ и добавляют 100 мг MgSO₄ и 450 мг сорбента C₁₈, встряхивают на вортексе 10 мин и центрифугируют при 19000g. Отбирают 1 см³ супернатанта в виалу и упаривают досуха в потоке воздуха при 45°C. Реконструируют в 200 мкл метанола, переносят во вставку для виалы и анализируют методом ВЭЖХ/МС-МС.

11 Выполнение измерений

При выполнении измерений в инжектор хроматографа вводят анализируемый раствор, полученный в п. 10.4. Подвижную фазу и реагенты предварительно проверяют на наличие азитромицина, тилдипирозина, китасамицина или других соединений, мешающих определению. С помощью установленных градуировочных характеристик проводят количественное определение аналита в анализируемом растворе.

12 Обработка результатов измерений

Результаты измерений обрабатываются с помощью программы Analyst и выдаются в виде массовой доли анализируемого вещества. При этом в программе, при обсчете, концентрация внутреннего стандарта в образцах и в калибровочных растворах принимается равной 50 нг/см³.

12.1 За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (2):

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

где X₁, X₂ – результаты параллельных определений массовой доли вещества, млрд⁻¹ (мкг/кг),

r – значение предела повторяемости, % (таблица 2).

12.2 Если условие (2) не выполняется, получают еще два результата в полном соответствии с данной методикой измерений. За результат измерений

принимают среднее арифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие

$$\frac{4 \cdot |X_{\max} - X_{\min}| \cdot 100}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)} \leq CR_{0,95}, \quad (3)$$

где X_{\max} , X_{\min} – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой доли аналита, млрд⁻¹ (мкг/кг);

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

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

для $n = 4$

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

где σ_r – показатель повторяемости, % (таблица 2).

12.3 Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

12.5 Если результат превышает верхний предел измерения, то выдают результат в следующей формулировке: «Содержание аналита превышает верхний предел диапазона измерения методики».

13 Оформление результатов измерений

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

$$\bar{X}_{k,c} \pm 0,01 \cdot U_{k,c} \cdot \bar{X}_{k,c}, \text{ при } P=0,95,$$

где $\bar{X}_{k,c}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений массовой доли аналита, признанных приемлемыми по 12.1, 12.2, млрд⁻¹ (мкг/кг);

U_{ke} – значение относительной расширенной неопределенности, % (таблица 2);

14. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности

14.1 Расхождение между результатами измерений, полученными в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности, не должно превышать предела внутрилабораторной прецизионности:

$$\left| X_1 - X_2 \right| \leq 0,01 R_d \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (5)$$

где X_1 и X_2 – результаты измерений массовой доли клавиановой кислоты, полученные в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности;

R_d – предел внутрилабораторной прецизионности, выраженный в относительных единицах. Значения предела внутрилабораторной прецизионности приведены в таблице 9.

14.2 При выполнении условия (5) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их среднее арифметическое значение.

Таблица 9 – Относительные значения показателя внутрилабораторной прецизионности, пределов внутрилабораторной прецизионности и воспроизводимости при доверительной вероятности $P=0,95$

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_{R_i}, \%$	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_{iL}, \%$	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в двух разных лабораториях), $R, \%$
Азитромицин				
Мясо, иные продукты убоя (за исключением субпродуктов), мясная продукция из всех видов убойных животных и птиц, рыба и рыбная продукция	От 1,0 до 20 включ.	15	42	50
	Св. 20 до 160 включ.	8	23	28
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц, яйца и яичные продукты	От 10 до 200 включ.	15	42	50
	Св 200 до 1600 включ.	11	30	36

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_L, \%$	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_L, \%$	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в двух разных лабораториях), $R, \%$
Молоко и молочные продукты	От 1,0 до 20 включ.	13	37	44
	Св. 20 до 160 включ.	9	26	30
Мед и продукты на его основе	От 1,0 до 20 включ.	15	42	50
	Св. 20 до 160 включ.	8	23	28
Шлик, жир, сливочное масло	Св. 1,0 до 160 включ.	7	19	22
Тизидипирозин				
Мясо, иные продукты убоя (за исключением субпродуктов), мясная продукция из всех видов убойных животных и	От 1,0 до 20 включ.	16	44	53
	Св. 20 до 160 включ.	11	30	36

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_{R_i}, \%$	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_{D}, \%$	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в двух разных лабораториях), $R \%$
птиц, рыба и рыбная продукция				
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц, яйца и яичные продукты	От 10 до 200 включ.	16	44	53
	Св. 200 до 1600 включ.	13	35	42
Молоко и молочные продукты	От 1,0 до 20 включ.	16	44	53
	Св. 20 до 160 включ.	9	26	30
Мед и продукты на его основе	От 1,0 до 20 включ.	16	44	53
	Св. 20 до 160 включ.	10	28	33
Шпик, жар, сливочное	Св. 1,0 до	8	21	25

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_R, \%$	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_{\text{в}}$, %	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в двух разных лабораториях), R %
масло	160 включ.			
Китасамнин				
Мясо, иные продукты убоя (за исключением субпродуктов), мясная продукция из всех видов убойных животных и птиц, рыба и рыбная продукция	От 1,0 до 20 включ.	15	42	50
	Св. 20 до 160 включ.	13	35	42
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц, яйца и яичные продукты	От 10 до 200 включ.	17	47	55
	Св 200 до 1600 включ.	13	37	44
Молоко и молочные продукты	От 1,0 до 20 включ.	16	44	53

Объект	Диапазон измерений массовой доли, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_{\kappa}, \%$	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_{\text{л}}, \%$	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в двух разных лабораториях), R, %
	Св. 20 до 160 включ.	9	26	30
Мед и продукты на его основе	От 1,0 до 20 включ.	16	44	53
	Св. 20 до 160 включ.	11	30	36
Шпик, жир, сливочное масло	Св. 1,0 до 160 включ.	7	19	22

15 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Оценку прецизионности результатов испытаний в условиях повторяемости и воспроизводимости проводят в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-1, ГОСТ ИСО 5725-2.

Периодичность получения результатов контрольных процедур и формы их регистрации приводят в документах лаборатории, устанавливающих порядок и содержание работ по организации методов контроля стабильности результатов измерений в пределах лаборатории

15.1 Оперативный контроль процедуры измерений

Оперативный контроль процедуры измерений проводит исполнитель измерений с целью проверки готовности лаборатории к проведению измерений рабочих проб или оперативной оценки качества результатов измерений, полученных совместно с результатом контрольного измерения. Оперативный контроль проводят в следующих случаях:

- при внедрении методики;
- при появлении факторов, которые могут повлиять на стабильность результатов измерений (смена реактивов, использование средств измерений после ремонта и т.д.);
- при получении двух из трёх последовательных результатов измерений рабочих проб в виде медианы.

Оперативный контроль процедуры измерений проводит непосредственно исполнитель измерений на основе оценки отдельно взятой контрольной процедуры (K_x) и сравнения результата процедуры с нормативом контроля (K).

Оперативный контроль процедуры измерений проводят по следующей схеме:

- проведение контрольного измерения и получение результата контрольной процедуры;
- расчёт результата контрольной процедуры (K_x);
- расчет норматива контроля (K).

Реализация решающего правила контроля – сопоставление результата контрольной процедуры с нормативом контроля и выводы по результатам контроля.

Оперативный контроль процедуры измерений может быть проведён с применением метода добавок (по 15.2).

Применение метода добавок используют при наличии условий для создания проб с введенными добавками, адекватных анализируемым пробам и при отсутствии образцов для контроля.

При организации контроля исполнитель анализа в соответствии с выбранным алгоритмом проведения контрольной процедуры анализа выбирает (при необходимости готовит) средства контроля.

Результаты контрольных измерений, полученные при оперативном контроле процедуры анализа, проводимом с каждой серией рабочих проб, могут быть использованы при реализации любой из форм контроля стабильности результатов анализа.

15.2 Оперативный контроль процедуры измерений с применением метода добавок

Средствами контроля являются:

- пробы, исследуемые по методике (рабочие пробы);
- пробы продукции, исследуемые по методике с известной добавкой клавулановой кислоты (рабочие пробы с добавкой).

Рабочие пробы для проведения оперативного контроля выбирают таким образом, чтобы массовая доля азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в пробе с добавкой не превышала верхней границы диапазона измерений. Анализируемую пробу делят на 2 равные части. Одну часть оставляют без изменения, во вторую делают добавку азитромицина, китасамицина, тилдипирозина C_0 , в зависимости от показателя внутрилабораторной прецизионности.

В соответствии с данной методикой в условиях повторяемости получают результаты контрольных измерений массовой доли азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в рабочей пробе – X_n и в рабочей пробе с

внесённой известной добавкой азитромицина, китасамицина, тилдипирозина – $X_{n+\delta}$.

Результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X_{n+\delta} - X_n - C_\delta, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)} \quad (6)$$

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{U_{LX_{n+\delta}}^2 + U_{LX_n}^2}, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (7)$$

где $\pm U_{LX_{n+\delta}}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой доли азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в пробе с добавкой, рассчитанная по формуле:

$$U_{LX_{n+\delta}} = 0,01\delta U_L X_{n+\delta}, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (8)$$

$\pm U_{LX_n}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой доли азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в пробе, рассчитанная по формуле:

$$u_{LX_n} = 0,01\delta U_L X_n \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (9)$$

$\pm u_{L}$ – относительное значение характеристики погрешности результатов измерений.

Реализация решающего правила контроля.

$$|K_k| \leq K \quad (10)$$

При невыполнении этого условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (10) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительному результату, и принимают меры к их устранению.

Примечание – Если в рабочей пробе установлено отсутствие азитромицина, китасамицина, тилдипирозина на уровне нижней границы диапазона измерений, установленного методикой измерений, то эта рабочая проба с введённой добавкой азитромицина, китасамицина, тилдипирозина C_δ может служить образцом для контроля с аттестованным значением C_δ . В этом случае результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X - C_\delta, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (11)$$

где X – результат контрольного измерения массовой доли азитромицина, китасамицина, тилдипирозина в образце для контроля;

C_0 – массовая концентрация введенной добавки, млрд¹ (мкг/кг).

16. Библиография

[1] Р 50.2.003-2000 ГСИ «Внутренний оперативный контроль качества. Пакет программ Qcontrol».

[2] РМГ 76-2014 Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа.

МУ А-1/137

(обозначение документа,
регламентирующего методику измерений)

Ключевые слова:

азитромицин, китасамицин, тилдипирозин, мониторинг

Руководитель разработки:

Заместитель директора

(должность)



(личная подпись)

А.В. Третьяков

(инициалы, фамилия)

Исполнитель:

Старший научный
сотрудник отдела
безопасности пищевой
и кормовой продукции

(должность)



(личная подпись)

А.Е. Жедулов

(инициалы, фамилия)

Директор института
молекулярной
тераностики³

(должность)



(личная подпись)

А.Е. Носырев

(инициалы, фамилия)



³ В части разработки: масло, шпик, жировая ткань.