

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



Методические указания

МУ А 1/126



УТВЕРЖДЕНО
Заместитель директора
ФГБУ «ВГНКИ»

А.В. Третьяков

» 08 2024 г.
(на основании доверенности
от 24.06.2024 № 23)

Методика (метод) измерений

**Методические указания по арбитражному определению остаточного
содержания седативных препаратов и адреноблокаторов в органах и
тканях животных 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
99.131.2024.49134

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. Киш Леонид Карольевич

(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.0001.310354-0112/2024
(номер свидетельства и дата его оформления)

Руководитель юридического лица,
аттестовавшего методику (метод) измерений

Киш Леонид Карольевич
(фамилия, имя, отчество)

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

Регистрационный код методики измерений по Федеральному реестру

РР.1.31.2024.49134

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

ВВЕДЕН (А) ВПЕРВЫЕ

Содержание

1 Назначение и область применения	1
2 Нормативные ссылки	3
3 Требования к показателям точности измерений	7
4 Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам	14
5 Метод измерений	18
6 Требования безопасности, охраны окружающей среды	18
7 Требования к квалификации операторов	19
8 Требования к условиям измерений	19
9 Отбор и хранение проб	19
10 Подготовка к выполнению измерений	20
11 Порядок выполнения измерений	32
12 Обработка результатов измерений	33
13 Оформление результатов измерений	35
14 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории	35
15 Приложение А Библиография	39

1 Назначение и область применения

Настоящая методика распространяется на переработанную и переработанную пищевую продукцию животного происхождения, мясо, иные продукты убоя и мясную продукцию из всех видов животных и птицы (включая жир, шпик и кишечное сырье), молоко и молочную продукцию, пищевую рыбную продукцию животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры, и устанавливает метод определения остаточного содержания седативных препаратов и адrenoблокаторов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС).

Метод предназначен для организаций и учреждений, независимо от их организационно-правовой формы, осуществляющих контроль безопасности продукции животноводства и кормов, а также мониторинг продукции животноводства по остаточному содержанию лекарственных средств.

Методика измерений входит в состав Методических указаний по арбитражному определению седативных препаратов и адrenoблокаторов в продукции животноводства методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Диапазон измерений массовой концентрации индивидуальных седативных препаратов и адrenoблокаторов представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Диапазоны измерений массовой концентрации определяемых соединений в зависимости от матрицы

Соединение	Диапазон измерения в образцах мяса, иных продуктах убоя и мясной продукции из всех видов животных и птиц (кроме субпродуктов, жира, шпика), молока и молочной продукции (кроме масла), пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Диапазон измерения в образцах субпродуктов всех видов животных и птицы и продукции из них, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Диапазон измерения в образцах жира, шпика, масла, млрд ⁻¹ (мкг/кг)
Азаперол	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Пропионилпромазин	от 10 до 500	от 10 до 500	от 10 до 500
Галоперидол	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Азаперон	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Флуфеназин	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Каразолол	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Ацепромазин	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Ксилазин	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Трифлупромазин	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Детомидин	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Медетомидин	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Хлорпромазин	от 1 до 500	от 10 до 500	от 10 до 500
Меперидин	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Диазепам	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500

Соединение	Диапазон измерения в образцах мяса, иных продуктах убоя и мясной продукции из всех видов животных и птиц (кроме субпродуктов, жира, шпика), молока и молочной продукции (кроме масла), пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Диапазон измерения в образцах субпродуктов всех видов животных и птицы и продукции из них, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Диапазон измерения в образцах жира, шпика, масла, млрд ⁻¹ (мкг/кг)
Метопролол	от 1 до 500	от 1 до 500	от 1 до 500
Ромифидин	от 1 до 500	от 10 до 500	от 10 до 500
Промазин	от 10 до 500	от 10 до 500	от 10 до 500

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 12.4.021-75 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 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 26809.1-2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды

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 28311-2021 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

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

ГОСТ 3117-78 Реактивы. Аммоний уксуснокислый. Технические условия

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

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

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

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

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

ГОСТ 32260-2013 Сыры полутвердые. Технические условия

ГОСТ 32951 Полуфабрикаты мясные и мясосодержащие. Общие технические условия

ГОСТ 32951-2014 Полуфабрикаты мясные и мясосодержащие. Общие 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 4288–76 Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса

ГОСТ 4814-57 Блоки мясные замороженные. Технические условия

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

ГОСТ 7269 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 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб

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. Испытания

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

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)

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 обеспечивают получение результатов измерений массовой концентрации седативных препаратов и адrenoблокаторов с погрешностью, не превышающей значений, приведенных в таблице 2-4.

Таблица 2 – Метрологические характеристики методики при проведении измерений массовой концентрации седативных препаратов и адrenoблокаторов в образцах мяса, иных продуктов убоя и мясной продукции из всех видов животных и птиц (кроме субпродуктов, жира, шпика), молока и молочной продукции (кроме масла), пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k=2$, $P=0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P=0,95$ $n=2$
Азаперол	От 1 до 500 включ.	20	7	9	19

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

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k = 2$, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P = 0,95$ $n = 2$
Азаперон	От 1 до 100 включ.	25	10	12	28
	Св. 100 до 500 включ.	17	6	8	17
Пропионилпромазин	От 10 до 100 включ.	25	10	12	28
	Св. 100 до 500 включ.	17	6	8	17
Галоперидол	От 1 до 500 включ.	15	5	7	14
Флуфеназин	От 1 до 500 включ.	24	6	11	17
Каразолол	От 1 до 50 включ.	24	6	11	17
	Св. 50 до 500 включ.	14	4	7	11
Ацепромазин	От 1 до 500 включ.	17	5	8	14
Ксилазин	От 1 до 50 включ.	25	10	12	28
	Св. 50 до 500 включ.	14	4	7	11
Трифлупромазин	От 1 до 500 включ.	25	10	12	28

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k=2$, $P=0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P=0,95$ $n=2$
Детомидин	От 1 до 500 включ.	20	8	10	22
Медетомидин	От 1 до 500 включ.	17	4	8	11
Хлорпромазин	От 10 до 100 включ.	30	12	15	33
	Св. 100 до 500 включ.	17	5	8	14
Меперидин	От 1 до 100 включ.	36	14	18	39
	Св. 100 до 500 включ.	18	6	9	17
Диазепам	От 1 до 100 включ.	18	8	9	22
	Св. 100 до 500 включ.	12	4	6	11
Метопролол	От 1 до 10 включ.	30	14	15	39
	Св. 10 до 500 включ.	18	6	9	17
Ромифидин	От 10 до 500 включ.	14	6	7	17
Промазин	От 10 до 500 включ.	20	5	10	14

Таблица 3 – Метрологические характеристики методики при проведении измерений массовой концентрации седативных препаратов и адrenoблокаторов в образцах субпродуктов всех видов животных и птицы и продукции из них

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k=2$, $P=0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P=0,95$ $n=2$
Азаперол	От 1 до 500 включ.	29	6	14	17
Азаперон	От 1 до 100 включ.	21	8	10	22
Пропионилпромазин	От 10 до 100 включ.	17	5	13	14
	Св. 100 до 500 включ.	10	4	5	11
Галоперидол	От 10 до 100 включ.	22	10	11	28
	Св. 100 до 500 включ.	10	4	5	11
Флуфеназин	От 1 до 100 включ.	14	6	7	17
	Св. 100 до 500 включ.	10	4	5	11
Каразолол	От 1 до 100 включ.	30	12	15	33
	Св. 100 до 500 включ.	12	4	6	11
Ацепромазин	От 1 до 100 включ.	30	12	15	33

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k = 2$, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P = 0,95$ $n = 2$
	Св. 100 до 500 включ.	12	4	6	11
Ксилазин	От 1 до 500 включ.	15	5	7	14
Трифлупромазин	От 1 до 100 включ.	36	14	18	39
	Св. 100 до 500 включ.	18	8	9	22
Детомидин	От 1 до 100 включ.	24	9	12	25
	Св. 100 до 500 включ.	10	4	5	11
Медетомидин	От 1 до 50 включ.	27	11	13	30
	Св. 50 до 500 включ.	15	4	7	11
Хлорпромазин	От 1 до 100 включ.	36	14	18	39
	Св. 100 до 500 включ.	18	8	9	22
Меперидин	От 1 до 100 включ.	40	13	20	36
	Св. 100 до 500 включ.	10	4	5	11
Диазепам	От 1 до 100 включ.	39	14	18	39

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k = 2$, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P = 0,95$ $n = 2$
	Св. 100 до 500 включ.	14	6	7	17
Метопролол	От 1 до 100 включ.	30	14	15	39
	Св. 100 до 500 включ.	18	6	8	17
Ромифидин	От 1 до 100 включ.	30	14	15	39
	Св. 100 до 500 включ.	14	4	7	11
Промазин	От 10 до 500 включ.	26	9	13	25

Таблица 4 – Метрологические характеристики методики при проведении измерений массовой концентрации седативных препаратов и адrenoблокаторов в образцах жира, шпика и масла

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k = 2$, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P = 0,95$ $n = 2$
Азаперол	От 1 до 500 включ.	30	14	15	39
Азаперон	От 1 до 500 включ.	26	7	13	19
Пропионилпромазин	От 10 до 500 включ.	17	6	8	17
Галоперидол	От 1 до 500 включ.	28	10	13	28
Флуфеназин	От 1 до 100 включ.	30	13	15	36
	Св. 100 до 500 включ.	20	9	10	25
Каразолол	От 1 до 500 включ.	18	8	9	22
Ацепромазин	От 1 до 500 включ.	22	10	11	28
Ксилазин	От 1 до 100 включ.	27	7	13	19
	Св. 100 до 500 включ.	17	6	8	17
Трифлупромазин	От 1 до 100 включ.	22	8	11	22
	Св. 100 до 500 включ.	17	6	8	17

Наименование показателя	Диапазон измерений массовой концентрации млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности $\pm U, \%$ при коэффициенте охвата $k = 2$, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости) $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости $r, \%$ $P = 0,95$ $n = 2$
Детомидин	От 1 до 100 включ.	24	11	12	30
	Св. 100 до 500 включ.	17	6	8	17
Медетомидин	От 1 до 10 включ.	20	8	10	22
	Св. 10 до 500 включ.	14	4	7	11
Хлорпромазин	От 10 до 50 включ.	36	14	18	39
	Св. 50 до 500 включ.	18	8	9	22
Метопролол	От 1 до 500 включ.	22	8	10	22
Ромифидин	От 10 до 500 включ.	26	10	12	28
Промазин	От 10 до 500 включ.	26	10	12	28

4 Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы.

4.1 Средства измерений, вспомогательные устройства

4.1.1 Масс-спектрометр, оснащенный источником ионизации с электрораспылением, квадрупольными анализаторами, с диапазоном измерений от 25 до 1050 атомных единиц массы (а.е.м.), и относительным

среднеквадратическим отклонением выходного сигнала по площади пика не более 10 %, с режимом получения и анализа фрагментных ионов (режим МС/МС).

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

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: Весы аналитические 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: ЕК-300i (A&D Company, Япония), номер в госреестре 25313-06).

4.1.8 Колбы 2-10-2 и цилиндры 1-1000-2 мерные по ГОСТ 1770.

4.1.9 Дозаторы механические автоматические переменной вместимости (2 – 20) мм³, (10 – 100) мм³, (100 – 1000) мм³ по ГОСТ 28311.

4.1.10 Бутыль стеклянная БВ-1000 по ГОСТ Р 51477.

4.1.11 Пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см³ с закручивающимися крышками.

4.1.12 Вials (флаконы) стеклянные вместимостью 2 см³ с закручивающимися крышками и тефлоновыми прокладками 9 мм.

4.1.13 Гомогенизатор.

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

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.

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 30 °С до минус 40 °С.

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

4.1.23 Вставки для виал, объемом от 200 до 300 мм³.

4.2 Реактивы, материалы

4.2.1 Метанол, квалификация "х.ч.",

4.2.2 Ацетонитрил, квалификация "х.ч.",

4.2.3 Ацетат аммония, квалификация "ч.д.а.",

4.2.4 Уксусная кислота, квалификация "х.ч.",

4.2.5 Промазин гидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,

4.2.6 Детомидина гидрохлорид моногидрат, с содержанием основного вещества не менее 85%,

- 4.2.7 Метопролол тартрат, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.8 Каразолол, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.9 Азаперон, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.10 Азаперол, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.11 Ксилазин гидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.12 Галоперидол, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.13 Ацепромазина малеат, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.14 Хлорпромазин гидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.15 Пропионилпромазина гидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.16 Трифлупромазина гидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.17 Диазепам, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.18 Медетомидина гидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.19 Меперидин, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.20 Ромифидина гидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.21 Флуфеназина дигидрохлорид, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.22 Каразолол-Д7, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.23 Азаперон-Д4, с содержанием основного вещества не менее 85%,
- 4.2.24 Азаперол-Д4, с содержанием основного вещества не менее 85%.
- 4.2.25 Сульфат магния по ГОСТ 4523, квалификация "х.ч".
- 4.2.26 Хлорид натрия по ГОСТ 4233, квалификация "х.ч".

4.2.27 Сорбент С18 для дисперсионной твердофазной очистки с размером частиц от 40 до 60 мкм.

Примечание 1 – допускается применение стандартных образцов веществ с отличными от приведенных выше процентами содержаний основного вещества.

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

5 Метод измерений

Измерения содержания остаточных количеств 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, охраны 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 12.1.005-88.

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 случае, если при работе на хромато-масс-спектрометре используются сжатые газы, следует соблюдать правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением Приказ Ростехнадзора от 15.12.2020 № 536 .

При выполнении измерений на хромато-масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.2.007.05 и инструкцией по эксплуатации прибора.

7 Требования к квалификации операторов

К операциям по подготовке проб и проведению измерений методом хромато-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, °C (20 ± 5),

атмосферное давление, мм рт.ст. ($630 - 800$),

относительная влажность воздуха при температуре 25°C, % ($20 - 80$).

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, кишечного сырья по ГОСТ 33790, ГОСТ 33791.

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 молока и молочной продукции – по ГОСТ 26809.1.

9.5 Отбор проб молочной продукции – по ГОСТ 26809.2.

9.6. Отбор проб консервов молочных – по ГОСТ 29245.

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

9.8. 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.

9.9. Отобранные пробы, при отсутствии возможности испытаний в день доставки в лабораторию, хранят при температуре от 2 °С до 8 °С 2 суток. При отсутствии возможности исследования образцов в течение 2 суток образцы должны быть заморожены при температуре -20 °С со сроком хранения не более 2 месяцев.

Масса отбираемого среднего образца должна быть не менее: 200 г.

10 Подготовка к выполнению измерений

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы.

10.1 Приготовление растворов

10.1.1 Приготовление растворов подвижной фазы для ВЭЖХ

Подвижная фаза А

Взвешивают 1,925 г ацетата аммония (3.2.3), помещают в стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ (3.1.10), дозатором добавляют 1 см³ уксусной

кислоты (3.2.4), мерным цилиндром (3.1.8) добавляют 1000 см³ деионизованной воды. Полученный раствор дегазируют на ультразвуковой бане в течение 5 мин.

Срок хранения подвижной фазы при комнатной температуре – 1 месяц.

Подвижная фаза Б

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ (3.1.10) помещают ацетонитрил для ВЭЖХ.

Срок хранения подвижной фазы при комнатной температуре – 3 месяца.

10.1.2 Приготовление рабочих растворов

10.1.2.1 Приготовление исходных растворов (C₀) с массовой концентрацией 1 мг/см³

На весах (4.1.6) взвешивают от 8,0 до 12,0 мг стандартных образцов и переносят в отдельные полипропиленовые пробирки вместимостью 15 см³. В пробирки весовым методом добавляют растворитель, масса которого рассчитывается по формуле (1):

$$m_p = \frac{m \cdot Ma \cdot Pa \cdot \rho}{Mc \cdot 100 \cdot C}, \quad (1)$$

где m_p – масса метанола, г;

m – масса стандартного образца, г;

Ma – молярная масса чистого вещества, г/моль;

Mc – молярная масса соли, г/моль;

Pa – степень чистоты стандартного образца, %;

ρ – плотность метанола/смеси для растворения, г/см³;

C – концентрация раствора C₀, г/см³.

При использовании стандартных образцов с точной заявленной массой, разведение исходного раствора производят непосредственно в таре производителя. Количество растворителя, необходимое для разведения

рассчитывают по формуле 1. После растворения жидкий слой переносят в полипропиленовую пробирку вместимостью 15 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, °C	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
25,0	0,7867

Рекомендуется проводить данную процедуру при температуре (20 ± 5) °C.

Срок хранения растворов при температуре минус 20 °C – 1 год.

10.1.2.2 Приготовление рабочего раствора (C_1)

С помощью автоматического дозатора (4.1.9) отбирают по 0,1 см³ растворов C_0 и переносят эти объемы в мерную колбу вместимостью 10 см³ (4.1.8), доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C_1 составляет 10 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре минус 20 °С – 6 месяцев.

10.1.2.3 Приготовление рабочего раствора (C_2)

С помощью автоматического дозатора отбирают 1,0 см³ раствора C_1 и переносят этот объем в мерную колбу вместимостью 10 см³ (4.1.8), доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C_2 составляет 1 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре минус 20 °С – 3 месяца.

10.1.2.4 Приготовление рабочего раствора (C_3)

С помощью автоматического дозатора отбирают 1,0 см³ раствора C_2 и переносят этот объем в мерную колбу вместимостью 10 см³ (4.1.8), доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C_3 составляет 0,1 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре минус 20 °С – 1 неделя.

10.1.2.5 Приготовление исходных растворов (D_0) внутренних стандартов седативных препаратов и адrenoблокаторов с массовой концентрацией 1 мг/см³

На микровесах (3.1.6) взвешивают массы реактивов внутренних стандартов, эквивалентные 10,0 мг основного вещества с учетом массовой концентрации, помещают навески в полипропиленовые пробирки вместимостью 15 см³, вносят 10 см³ метанола, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню.

Срок хранения раствора при температуре минус 20 °С – 1 год.

10.1.2.6 Приготовление рабочего раствора (D_1) внутренних стандартов

С помощью автоматического дозатора отбирают по $0,1 \text{ см}^3$ растворов D_0 и переносят эти объемы в мерную колбу вместимостью 10 см^3 (4.1.8), доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутренних стандартов в растворе D_1 составляет 10 мкг/см^3 .

Срок хранения раствора при температуре минус 20°C – 6 месяцев.

10.1.2.7 Приготовление рабочего раствора (D_2) внутренних стандартов

С помощью автоматического дозатора отбирают 1 см^3 раствора D_1 и переносят этот объем в мерную колбу вместимостью 10 см^3 (4.1.8), доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутренних стандартов в растворе D_2 составляет 1 мкг/см^3 .

Срок хранения раствора при температуре минус 20°C – 3 месяца.

10.1.3 Приготовление градуировочных растворов ($G_1 - G_6$) седативных препаратов и адrenoблокаторов

10.1.3.1 Приготовление градуировочного раствора (G_1) с массовой концентрацией 500 нг/см^3

В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3 помещают $1,0 \text{ г}$ образца, не содержащего седативных препаратов и адrenoблокаторов (бланк) (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака). С помощью автоматического дозатора к образцу добавляют $0,05 \text{ см}^3$ раствора C_1 и $0,05 \text{ см}^3$ раствора D_2 , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 9.5.

10.1.3.2 Приготовление градуировочного раствора (G_2) с массовой концентрацией 100 нг/см³

В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего седативных препаратов и адреноблокаторов (бланк) (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака). С помощью автоматического дозатора к образцу добавляют 0,1 см³ раствора C_2 и 0,05 см³ раствора D_2 , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.5.

10.1.3.3 Приготовление градуировочного раствора (G_3) с массовой концентрацией 50 нг/см³

В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего седативных препаратов и адреноблокаторов (бланк) (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака). С помощью автоматического дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора C_2 и 0,05 см³ раствора D_2 , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.5.

10.1.3.4 Приготовление градуировочного раствора (G_4) с массовой концентрацией 10 нг/см³

В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего седативных препаратов и адреноблокаторов (бланк) (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака). С помощью автоматического дозатора к образцу добавляют 0,1 см³ раствора C_3 и 0,05 см³ раствора D_2 , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.5.

10.1.3.5 Приготовление градуировочного раствора (G_5) с массовой концентрацией 5 нг/см³

В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего седативных препаратов и адреноблокаторов (бланк)

(результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака). С помощью автоматического дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора С₃ и 0,05 см³ раствора D₂, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.5.

10.1.3.6 Приготовление градуировочного раствора (G₆) с массовой концентрацией 1 нг/см³

В полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего седативных препаратов и адrenoблокаторов (бланк) (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака). С помощью автоматического дозатора к образцу добавляют 0,01 см³ раствора С₃ и 0,05 см³ раствора D₂, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.5.

Растворы G₁ – G₆ хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 4 °С. Срок хранения растворов не более 1 дня.

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

При анализе в режиме положительных ионов:

температура колонки 40°C;

скорость потока подвижной фазы 0,2 см³/мин;

объем вводимой пробы 20 мм³.

Разделение проводили в режиме градиентного элюирования: с 0,0 по 1,0 минуту элюирование 100% подвижной фазы А; с 1,0 по 11,0 минуту градиентное элюирование от 100 % до 5 % фазы А; с 11,0 по 11,1 минуту переход от 5 % до 100 % фазы А, с 11,1 по 20,0 минуту – уравнивание колонки в 100 % фазы А.

10.2.2 Параметры настройки масс-спектрометрического детектора

Таблица 6 – Параметры в режиме MRM в условиях электрораспыления с регистрацией положительных ионов

№	Определяемое вещество	Ион-предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Энергия столкновений, эВ / Потенциал на выходе из ячейки, В
1	Азаперол	330,3	121,1/312,2	28/12 20/13
2	Пропионилпромазин	341,3	236,2/268,2	47/11 32/20
3	Галоперидол	376,2	165,1/123,2	31/11 55/11
4	Азаперон	328,3	121,1/165,2	25/12 27/11
5	Флуфеназин	438,2	143,2/171,2	38/9 34/12
6	Каразолол	299,2	116,2/222,2	27/10 26/10
7	Ацепромазин	327,2	86/254,3	23/14 31/16
8	Ксилазин	221,1	90/164,1	30/11 35/11
9	Трифлупромазин	353,2	58,2/280,1	68/7 32/13
10	Детомидин	187,3	81/54,2	25/11 51/8
11	Медетомидин	201,3	95,3/68,1	24/6 45/8
12	Хлорпромазин	319,2	58/246,1	83/11 30/17

№	Определяемое вещество	Ион- предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Энергия столкновений, эВ / Потенциал на выходе из ячейки, В
13	Меперидин	248,2	103,2/220,3	50/8 30/14
14	Диазепам	285	154.2/193.1	36/15 46/15
15	Метопролол	268,2	116,2/191,2	25/18 23/13
16	Ромифидин	259,4	160/178	40/9 45/10
17	Промазин	284,6	180,1/212,1	52/10 30/15
18	Азаперол-Д4*	334,3	153,2	37/10
19	Азаперон-Д4*	332,3	127,2	50/17
20	Каразолол-Д7*	306,1	123	24/10
Внутренний стандарт*				

Напряжение на зонде (IS): + 5500 В

Разрешение квадруполей Q1/Q3: единичное;

Поток газа для фрагментации (CAD): 6

Контроль чувствительности хромато-масс-спектрометра осуществляют введением 20 мм³ градуировочного раствора G₆ в инжектор хроматографа. Полученное значение соотношения сигнал/шум для каждого MRM перехода определяемого вещества должно быть не менее 10.

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 10.1.3. Для приготовления проводят обработку проб согласно разделу 10.5 "чистых" проб (бланков), не содержащих действующих веществ, к которым перед обработкой добавляют 0,05 см³ раствора внутренних стандартов с массовой концентрацией каждого вещества 1 мкг/см³ и рабочие растворы аналитов в количестве, необходимом для получения массовых концентраций в соответствующих пределах от 1 до 500 нг/см³ для каждого определяемого вещества (10.1.3).

Внутренние стандарты выбирают в соответствии с таблицей 7.

Таблица 7 – внутренние стандарты

№	Определяемое вещество	Внутренний стандарт
1	Азаперол	Азаперол-Д4
2	Пропионилпромазин	Каразолол-Д7
3	Галоперидол	Каразолол-Д7
4	Азаперон	Азаперон-Д4
5	Флуфеназин	Каразолол-Д7
6	Каразолол	Каразолол-Д7
7	Ацепромазин	Каразолол-Д7
8	Ксилазин	Каразолол-Д7
9	Трифлупромазин	Каразолол-Д7
10	Детомидин	Каразолол-Д7
11	Медетомидин	Каразолол-Д7
12	Хлорпромазин	Каразолол-Д7
13	Меперидин	Каразолол-Д7
14	Диазепам	Азаперол-Д4
15	Метопролол	Каразолол-Д7
16	Ромифидин	Азаперон-Д4
17	Промазин	Каразолол-Д7

Градуировочную зависимость строят с помощью программы «Analyst» в координатах «отношение площади пика определяемого вещества к площади пика

внутреннего стандарта этого вещества» – «концентрация определяемого вещества к концентрации внутреннего стандарта вещества в градуировочном растворе». При построении градуировочной зависимости используют линейную регрессию, при этом коэффициент корреляции должен быть не менее 0,98.

Для нахождения градуировочной характеристики в инжектор хроматографа вводят по 20 мм³ градуировочных растворов. Подвижную фазу, реагенты и матрицу предварительно проверяют на наличие седативных препаратов и адrenoблокаторов или других соединений, мешающих определению.

10.4 Контроль стабильности градуировочной характеристики

Для контроля стабильности градуировочной характеристики (если необходимо) используют контрольные растворы. Контрольными растворами являются градуировочные растворы G₃ и G₅, которые анализируют в точном соответствии с прописью методики. Градуировочную характеристику считают стабильной, если значения, рассчитанные по формуле (2) с помощью программы обработки данных Analyst не превышают 20 %:

$$\frac{|C_{\text{град.}} - C_{\text{расч.}}| \cdot 100}{C_{\text{расч.}}} \leq 20\%, \quad (2)$$

где $C_{\text{град.}}$ – массовая доля, найденная по градуировочной характеристике, мкг/кг,

$C_{\text{расч.}}$ – массовая доля в градуировочном растворе, мкг/кг.

Если условие стабильности не выполняется только для одного контрольного раствора, то проводят повторное измерение этого раствора с целью исключения результата, содержащего грубую ошибку. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики прибор градуируют заново.

10.5 Подготовка проб

10.5.1 Подготовка проб мяса, иных продуктов убоя и мясной продукции из всех видов животных и птицы (кроме жира, шпика), молока и молочной продукции (кроме масла), пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры

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 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).

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

100 г пробы измельчают на гомогенизаторе (4.1.13) и взвешивают на весах (4.1.7) по 1,0 г гомогенизированной ткани в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см³. С помощью автоматического дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ рабочего раствора внутренних стандартов D₂ (10.1.2.7), помещают пробирку в шейкер для перемешивания в течение 1-2 мин и выдерживают в темноте при комнатной температуре 10 мин. Добавляют к пробе 10 см³

ацетонитрила (4.2.2), помещают пробирку на 15 мин в шейкер. Затем центрифугируют при скорости вращения 4000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4°C (4.1.15). Отбирают автоматическим дозатором 2 см³ надосадочной жидкости в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ и упаривают досуха в токе азота при 40°C. Полученный осадок перерастворяют в 0,2 см³ ацетонитрила (4.2.2) и помещают на ультразвуковую баню на 5 минут. Добавляют 0,8 см³ деионизированной воды и перемешивают. Полученный раствор центрифугируют при 15000 об/мин при 4°C 30 минут. Экстракт фильтруют в виалу для автосамплера жидкостного хроматографа. Полученный раствор используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

10.5.2 Подготовка проб жира, шпика, масла

Берут навеску гомогенизированного образца $0,5 \pm 0,05$ г и переносят в пластиковый фалькон на 15 см³, добавляют 25 мм³ внутреннего стандарта D₁ с концентрацией 10 мкг/см³ (10.1.2.6) 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 (4.2.25) и 100 мг NaCl (4.2.26), встряхивают и помещают в ультразвуковую баню на 30 мин при 30°C. Центрифугируют в течение 10 мин при 4000 об/мин. Отбирают 1,5 см³ надосадочной жидкости в эппендорф на 2 см³ и добавляют 100 мг MgSO₄ и 450 мг сорбента C₁₈ (4.2.27), встряхивают на вортексе 10 мин и центрифугируют при 15000 об/мин. Отбирают 1 см³ супернатанта в виалу и упаривают досуха в потоке воздуха при 45°C. Реконструируют в 200 мкл метанола, переносят во вставку для виал (4.1.23) и анализируют методом ВЭЖХ/МС-МС.

11 Порядок выполнения измерений

При выполнении измерений в инжектор хроматографа вводят 20 мм³ анализируемого раствора. Подвижную фазу и реагенты предварительно

проверяют на наличие седативных препаратов и адреноблокаторов или других соединений, мешающих определению. С помощью установленных градуировочных характеристик проводят количественное определение седативных препаратов и адреноблокаторов в анализируемом растворе.

Для идентификации седативных препаратов и адреноблокаторов рассчитывают отношения площадей пиков ионов-продуктов в анализируемом растворе и сравнивают их с отношениями площадей пиков ионов-продуктов в градуировочных растворах, отклонения не должны превышать значений, указанных в таблице 8.

Таблица 8 – Допустимые отклонения относительных ионных интенсивностей

Отношение площадей пиков ионов-продуктов (% от основного пика)	Максимально допустимые отклонения для ВЭЖХ-МС/МС детектирования
> 50 %	± 20 %
> 20 % до 50 %	± 25 %
> 10 % до 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 %

Отношение площадей пиков ионов-продуктов рассчитывают по формуле:

$$\frac{A1(an)}{A2(an)}, \quad (3)$$

где $A1(an)$ – площадь пика определяемого вещества для иона-продукта с меньшей интенсивностью,

$A2(an)$ – площадь пика определяемого вещества для иона-продукта с наибольшей интенсивностью.

12 Обработка результатов измерений

Результаты измерений обрабатываются с помощью программы Analyst и выдаются в виде массовой концентрации анализируемого вещества.

12.1 За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (4)

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

где X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой концентрации вещества, мкг/кг,

r – значение предела повторяемости, % (таблицы 2- 4).

Полученные среднеарифметические значения двух результатов параллельных измерений анализируемой пробы округляют:

- в диапазоне значений от 1 до 100 мкг/кг включительно – до первого десятичного знака после запятой;
- в диапазоне значений от 100 до 500 мкг/кг включительно – до целого числа.

12.2 Если условие (4) 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

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

где $X_{\max}, X_{\min}$ – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой концентрации аналита, 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 $n = 4$

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

где σ_r – показатель повторяемости, % (таблицы 2- 4).

12.3 Если условие (5) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

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 концентрации аналита, признанных приемлемыми по 12.1, 12.2, мкг/кг;
 $U_{k,c}$ – значение относительной расширенной неопределенности, % (таблицы 2-4).

14 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории рекомендуется осуществлять по ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002, используя контроль стабильности стандартного отклонения повторяемости по 6.2.2, стандартного отклонения промежуточной прецизионности по 6.2.3 и показателя правильности по 6.2.4. Проверку стабильности рекомендуется осуществлять с применением контрольных карт Шухарта.

14.1 Оценка приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости

Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ по формуле (6):

$$\bar{X}_{\max} - \bar{X}_{\min} \leq 0,01 \cdot \bar{X}_{\text{ср}} \cdot CD_{0,95}, \quad (7)$$

где $\bar{X}_{\max}$ – больший результат измерений (среднее арифметическое значение двух параллельных определений), мкг/кг,

$\bar{X}_{\min}$ – меньший результат измерений (среднее арифметическое значение двух параллельных определений), мкг/кг,

$\bar{X}_{\text{ср}}$ – среднее арифметическое результатов измерений для двух лабораторий, мкг/кг,

$CD_{0,95}$ – значение критической разности, рассчитывается по формуле (8),

где n_1, n_2 – число параллельных определений в первой и второй лаборатории.

$$CD_{0,95} = 2,77 \sqrt{\sigma_R^2 - \sigma_r^2 \left(1 - \frac{1}{2n_1} - \frac{1}{2n_2}\right)}, \quad (8)$$

где 2,77 – коэффициент критического диапазона для двух параллельных определений по ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002,

σ_R – показатель воспроизводимости, % (таблицы 2-4),

σ_r – показатель повторяемости, % (таблицы 2-4).

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, приводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их общее среднее значение. Если критическая разность превышена, выполняют процедуры, изложенные в 5.3.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002. При разногласиях руководствуются 5.3.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002.

14.2 Контроль стабильности с применением карт Шухарта

Контроль стабильности результатов измерений при реализации методики в лаборатории рекомендуется осуществлять по ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002, используя контроль стабильности стандартного отклонения повторяемости и стандартного отклонения промежуточной прецизионности рутинного анализа.

Применяя метод контрольных карт Шухарта, проверяют стабильность этих результатов измерений и оценивают стандартное отклонение повторяемости (стандартное отклонение промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами "время" и "оператор"). Средством контроля является специально

выбранная рабочая проба (или рабочая проба с добавкой) из числа проанализированных ранее.

После отбора испытываемую пробу от каждой партии подготавливают в лаборатории для анализа.

Для установления значения стандартного отклонения повторяемости одну и ту же пробу анализирует один и тот же оператор, использующий одно и то же оборудование, в одно и то же время, получая результаты C_1 и C_2 .

Для установления значения стандартного отклонения промежуточной прецизионности одну пробу, подвергавшуюся анализу во время смены (C_1), анализирует повторно другой оператор в другую смену (C_2), и результаты сравнивают.

Значение стандартного отклонения повторяемости (σ_r) (стандартного отклонения промежуточной прецизионности ($\sigma_{I(T,O)}$)) устанавливают в лаборатории по результатам измерений за предыдущий период. Параметры контрольной карты пределов для каждого диапазона рассчитывают следующим образом.

Средняя линия $d_2 \cdot \sigma_r = 1,128 \cdot \sigma_r$,

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

где σ_r – стандартное отклонение повторяемости, %,

$\sigma_{I(T,O)}$ – стандартное отклонение промежуточной прецизионности, %.

Верхний предел действия $UCL_D = 3,686 \cdot \sigma_r$,

$$UCL_D = 3,686 \cdot \sigma_{I(T,O)},$$

Верхний предел предупреждения $UCL_{II} = 2,834 \cdot \sigma_r$,

$$UCL_{II} = 2,834 \cdot \sigma_{I(T,O)}.$$

Рассчитывают расхождения (w) по формуле (9) и наносят на карту в течение контролируемого периода:

$$w = \frac{2 \cdot |C_1 - C_2| \cdot 100}{(C_1 + C_2)}. \quad (9)$$

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30. После этого проводят оценку стандартного отклонения повторяемости (S_r) (стандартного отклонения промежуточной прецизионности ($S_{I(T,O)}$)) результатов по формулам (10) и (11):

$$S_r = \frac{\sum_{i=1}^k w_i}{m_k \cdot d_2}, \quad (10)$$

$$S_{I(T,O)} = \frac{\sum_{i=1}^k w_i}{m_k \cdot d_2}, \quad (11)$$

где m_k — число измерений.

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

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

Приложение А

Библиография

(информационное)

1. Jing Zhang, Bing Shao, Jie Yin, YongningWu, Hejun Duan. Simultaneous detection of residues of b-adrenergic receptor blockers and sedatives in animal tissues by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 877 (2009) 1915–1922.
2. Jeong-Heui Choi, Marc Lamshoft, Sebastian Zuhlke, Ki Hun Park, Jae-Han Shim, Michael Spiteller. Determination of sedatives and adrenergic blockers in blood meal using accelerated solvent extraction and Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1260 (2012) 111– 119.
3. Philippe Delahaut, Pierre-Yves Brasseur, Michel Dubois. Multiresidue method for the detection of tranquillisers, xylazine, and a b-blocker in animal production by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1054 (2004) 373–378.
4. Kamila Mitrowska, Andrzej Posyniak, Jan Zmudzki. Rapid method for the determination of tranquilizers and a beta-blocker in porcine and bovine kidney by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 637 (2009) 185–192.

МУ А-1/126

(обозначение документа,
регламентирующего методику измерений)

Ключевые слова:

Седативные средства, продукция животноводства, мониторинг

Руководитель разработки:

Заместитель директора
ФГБУ «ВГНКИ»

(должность)

(личная подпись)

А.В. Третьяков

(инициалы, фамилия)

Исполнители:

Старший научный
сотрудник отдела
безопасности пищевой
и кормовой продукции

(в части разработки: масло,
шпик, жировая ткань)

Директор института
молекулярной
тераностики

(должность)

(личная подпись)

И.В. Батов

(личная подпись)

А.Е. Носырев

(инициалы, фамилия)

