

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



Методические указания

МУ А-1/128

УТВЕРЖДЕНО

Заместитель директора
ФГБУ «ВГНКИ»

А.В. Третьяков

08 20 24 г.

(на основании доверенности
от 24.06.2024 № 23)



Методика (метод) измерений

**Методические указания по определению остаточного содержания зоалена в
пищевой продукции и кормах 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. 49152

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: rectorat@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.0001.310354-0114/2024

(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

ФР. 1.31. 2024. 49152

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	4
4 Требования к средствам измерений, вспомогательному оборудованию, материалам, реактивам	6
5 Метод измерений.....	8
6 Требования безопасности, охраны окружающей среды	9
7 Требования к квалификации операторов.....	9
8 Требования к условиям измерений	9
9 Отбор и хранение проб	10
10 Подготовка к выполнению измерений.....	11
11 Порядок выполнения измерений	22
12 Обработка результатов измерений	22
13 Оформление результатов измерений	24
14 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности	25
15 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории.....	26
Приложение А.....	30
Приложение Б	31

1 Назначение и область применения

Настоящие методические указания устанавливают методику измерений массовой концентрации зоалена в переработанной и переработанной пищевой продукции животного происхождения: продуктах убоя и мясной продукции; жире, шпике; продуктах убоя сельскохозяйственной птицы и продукции их переработки; яйцах птицы и продуктах их переработки; кормах и кормовом сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).

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

Диапазон измерений массовой концентрации зоалена представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Диапазоны измерений массовой концентрации зоалена в различных матрицах

Соединение	Мясо, иные продукты убоя (за исключением субпродуктов) от всех видов убойных животных и птиц, мясная продукция, жир, шпик, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Субпродукты всех видов убойных животных и птиц, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Яйца и яичная продукция, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Корма и кормовое сырьё, млрд ⁻¹ (мкг/кг)
Зоален	От 1 до 1000	От 50 до 5000	От 50 до 5000	От 50 до 5000

При концентрации зоалена в образце, превышающей верхний предел диапазона измерения, допускается провести разбавление раствора для анализа подго-

товленной пробы (по п. 10.4) в $d=10$ раз по методике, изложенной в Приложении Б, с последующим повторным анализом.

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 13496.0-2016 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 17681-82 Мука животного происхождения. Методы испытаний

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 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 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 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

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 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 ISO 6497-2014 Корма. 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 57901-2017 Яйца куриные пищевые повышенного качества. Технические условия

ГОСТ Р 59369-2021. Корма для непродуктивных животных. Методы отбора проб

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 обеспечивают получение результатов измерений массовой концентрации зоалена 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 концентрации, 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 $P = 0,95$, $n = 2$)
Мясо, мясная продукция и продукты убоя всех видов убойных животных и птиц	От 1 до 1000 включ.	12	5	6	14
Жир, шпик	От 1 до 1000 включ.	25	6	12	17
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц	От 50 до 500 включ.	25	5	12	14
	От 500 до 5000 включ.	12	3	6	8
Корма и кормовое сырьё	От 50 до 5000 включ.	10	5	5	14
Яйца и яичная продукция	От 50 до 500 включ.	18	4	8	11

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

Объект	Диапазон измерений массовой концентрации, 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 $P = 0,95$, $n = 2$)
	От 500 до 5000 включ.	10	4	5	11
* - соответствует характеристики 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).

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

4.1.9 Дозаторы механические автоматические переменной вместимости (2 – 20) мм³, (10 – 100) мм³, (100 – 1000) мм³, (500 – 5000) мм³ по ГОСТ 28311.

4.1.10 Бутыль стеклянная БВ-1000 по ГОСТ 34037.

4.1.11 Пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см³ с завинчивающимися крышками.

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

4.1.13 Картриджи для твердофазной экстракции вместимостью не менее 3 см³, заполненные сорбентом на основе сополимера дивинилбензола и винилпирролидона с частицами диаметром не более 50 мкм, массой 60 мг (например Oasis HLB).

4.1.14 Модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 60 °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 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 Вакуумное устройство для твердофазной экстракции.

4.1.25 Гомогенизатор лабораторный.

4.2 Реактивы, материалы

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 муравьиная кислота по ГОСТ 5848, квалификация "х.ч.",

4.2.4 формиат аммония, квалификация "х.ч.",

4.2.5 зоален, доля основного вещества 90%,

4.2.6 зоален-Д5, доля основного вещества 90%,

4.2.7 MgSO₄, квалификация "х.ч.",

4.2.8 NaCl, квалификация "х.ч.",

4.2.9 Обращенно-фазный сорбент C₁₈.

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, 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.

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 хромато-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 хромато-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 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, % (40 – 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 продуктов переработки животных жиров – по ГОСТ ISO 5555, ГОСТ 8285.

9.7. Отбор проб кормов производится по ГОСТ ISO 6497, ГОСТ Р 59369, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 17681.

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 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 стеклянную бутылку вместимостью 1000 см^3 мерным цилиндром (4.1.8) отмеряют 475 см^3 деионизированной воды, 250 см^3 метанола (4.2.1) и 275 см^3 ацетонитрила (4.2.2), добавляют $0,5\text{ г}$ формиата аммония (4.2.4) и $5,0\text{ см}^3$ муравьиной кислоты (4.2.3). Полученный раствор дегазируют на ультразвуковой бане (4.1.16) в течение 5 мин.

Раствор годен к использованию в течение 1 месяца.

10.1.2 Приготовление подвижной фазы Б

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см^3 мерным цилиндром (4.1.8) отмеривают 475 см^3 метанола (4.2.1) и 525 см^3 ацетонитрила (4.2.2), добавляют $0,5\text{ г}$ формиата аммония (4.2.4) и $0,5\text{ см}^3$ муравьиной кислоты (4.2.3). Полученный раствор дегазируют на ультразвуковой бане (4.1.16) в течение 5 мин.

Раствор годен к использованию в течение 1 месяца.

10.1.3 Приготовление рабочих растворов

10.1.3.1 Приготовление исходного раствора стандартного образца (C_0) зоалена с массовой концентрацией 1000 мкг/см³

На весах (4.1.6) взвешивают 8,0 - 12,0 мг стандартного образца и переносят в отдельную полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³. В пробирку весовым методом добавляют метанол, 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 стандартного образца, г/моль;

Pa —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 3.

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.

Таблица 3 – 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

Температура воздуха, °C	Плотность метанола (ρ), г/см ³
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
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

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре – 20°C в течение 1 года.

10.1.3.2 Приготовление раствора (C_1) с массовой концентрацией аналита в растворе 10 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают 0,1 см³ раствора C_0 в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленные растворы хранят в морозильной камере при температуре минус 20°C в течение 6 месяцев.

10.1.3.3 Приготовление раствора (C_2) с массовой концентрацией аналита в растворе 1 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают 1,0 см³ раствора C_1 в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят при температуре минус 20 °C в течение 3 месяцев.

10.1.3.4 Приготовление раствора (C_3) с массовой концентрацией аналита в растворе 0,1 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают 1,0 см³ раствора C_2 в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят при температуре минус 20 °C в течение 1 недели.

10.1.3.5 Приготовление исходного раствора (D_0) внутреннего стандарта с массовой концентрацией зоалена-D5 в растворе 1000 мкг/см³

На весах (4.1.6) взвешивают 8,0 - 12,0 мг внутреннего стандарта аналита и переносят в отдельную полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³. В пробирки весовым методом добавляют растворитель - метанол, масса которого рассчитывается по формуле (1).

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре минус 20 °C в течение 1 года.

10.1.3.6 Приготовление раствора внутреннего стандарта (D_1) с массовой концентрацией аналита в растворе 10 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают по 0,1 см³ растворов D_0 в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят при температуре минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.3.7 Приготовление раствора внутреннего стандарта (D_2) с массовой концентрацией аналита в растворе 1 мкг/см³

Дозатором переменного объема отбирают 1,0 см³ раствора D_1 в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят до метки метанолом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят при температуре минус 20 °С в течение 3 месяцев.

10.1.4 Приготовление градуировочных растворов ($G_1 - G_5$) и ($S_1 - S_5$)

10.1.4.1 Приготовление образцов мышечной ткани с концентрацией аналита 1000 нг/см³ (G_5)

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 D_2 (10.1.3.7) и 0,1 см³ раствора C_1 (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.

10.1.4.2 Приготовление образцов мышечной ткани с концентрацией аналита 100 нг/см³ (G_4)

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 D_2 (10.1.3.7) и 0,1 см³ 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°С 1 день.

10.1.4.3 Приготовление образцов мышечной ткани с концентрацией аналита 10 нг/см³ (G3)

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 0,1 см³ раствора C₃ (10.1.3.4), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Далее проводят пробоподготовку согласно п. 9.4.1.

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

10.1.4.4 Приготовление образцов мышечной ткани с концентрацией аналита 5 нг/см³ (G2)

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 0,05 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°C 1 день.

10.1.4.5 Приготовление образцов мышечной ткани с концентрацией аналита 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°C 1 день.

10.1.4.6 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и кормов с концентрацией аналита 5000 нг/см³ (S5)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомых аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₁ (10.1.3.6) и 0,5 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°C 1 день.

10.1.4.7 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и кормов с концентрацией аналита 1000 нг/см³ (S4)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомых аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₁ (10.1.3.6) и 0,1 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°C 1 день.

10.1.4.8 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и кормов с концентрацией аналита 500 нг/см³ (S3)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомых аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₁ (10.1.3.6) и 0,05 см³ раствора C₁ (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°C 1 день.

10.1.4.9 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и кормов с концентрацией аналита 100 нг/см³ (S2)

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомых аналитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₁ (10.1.3.6) и 0,1 см³ раствора C₂ (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°C 1 день.

10.1.4.10 Приготовление образцов субпродуктов, яиц и кормов с концентрацией аналита 50 нг/мл (S1)

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 D₁ (10.1.3.6) и 0,05 см³ раствора C₂ (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°C 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 °C;

скорость потока подвижной фазы 0,3 см³/мин;

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования: в начальный момент и до 2,0 мин элюирование в 100%-ной мобильной фазе А, с 2,0 по 4,0 мин градиентное элюирование к 100%-ной мобильной фазе Б, с 4,0 по 18,0 мин элюирование в 100%-ной мобильной фазе Б, с 18,0 по 18,10 мин переход к элюированию в 100%-ной мобильной фазе А, с 18,10 по 28,0 мин уравнивание колонки в 100%-ной мобильной фазе А.

10.2.2 Параметры настройки масс-спектрометрического детектора

Таблица 4 – 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	Зоален	224	181	-64	-14/-15
			151	-64	-20/-15
2	Зоален-Д5	229	185	-100	-15/-10
			155	-100	-24/-10

Напряжение на зонде (IS):

– 4500 В для отрицательного режима регистрации ионов;

Разрешение квадруполей Q1/Q3: единичное;

Поток газа для фрагментации (CAD): 6.

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 внутреннего стандарта (зоален-Д5) и рабочий раствор зоалена 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 этого вещества» – «концентрация определяемого вещества в градуировочном растворе», при этом в программе указывают концентрации стандартов и внутреннего стандарта согласно Таблице 5.

Таблица 5 – концентрации стандарта и внутреннего стандарта для занесения в программу обесчета

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	10
G4	50	100
G5	50	1000
S1	50	50
S2	50	100
S3	50	500
S4	50	1000
S5	50	5000

При построении градуировочной зависимости используют линейную регрессию, при этом 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 Мясо и мясная продукция всех видов убойных животных и птиц, субпродукты всех видов убойных животных и птиц, прочие продукты убоя

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 8285-91 (пункт 2.1.7).

100 г пробы измельчают на гомогенизаторе (4.1.25) и взвешивают на весах (4.1.7) в полипропиленовой пробирке (4.1.11) 1,0 г образца. Пипеточным дозатором в пробирку вносят 0,05 см³ раствора внутренних стандартов D₂ в случае мяса и мясных продуктов и D₁ в случае субпродуктов (10.1.3). Осторожно приливают 3 см³ ацетонитрила (4.2.2) и помещают пробирку на 15 мин в шейкер (4.1.18) для экстракции. Затем центрифугируют при 4000 об/мин в течение 15 мин при температуре 10 °С. Переливают органический слой в новую полипропиленовую пробирку, помещают ее на нагревательный модуль (4.1.14) и упаривают в токе азота при температуре 60 °С до 0,1-0,2 см³. К остатку приливают 2 см³ деионизированной воды, перемешивают в шейкере 5 с и центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин при температуре 20 °С. Полученный экстракт очищают методом твердофазной экстракции (ТФЭ). Перед нанесением экстракта на картридж (4.1.13) последовательно кондиционируют сорбент 2 см³ метанола и 2 см³ деионизированной воды. Затем пропускают через картридж полученный экстракт (при процедуре очищения вакуум или избыточное давление не применяют). Промывают картридж 2 см³ деионизированной воды, сушат в вакууме водоструйного насоса в течение 10 мин и элюируют аналиты 2 см³ метанола в новую полипропиленовую пробирку. Элюат помещают на нагревательный модуль и упаривают в токе азота при температуре 60 °С до (0,1 - 0,2) см³. К полученному остатку приливают 0,5 см³ раствора мобильной фазы А (10.1.1) и тщательно перемешивают, переливают экстракт в центрифужную полипропиленовую пробирку вместимостью 1,5 см³, доводят объем фазой А до 1 см³ и центрифугируют при 15000 об/мин в течение 10 мин при температуре 20 °С. Пипеточным дозатором переносят центрифугат в вials для автосамплера жидкостного хроматографа. Полученный раствор используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

10.4.2 Жир, шпик

Берут навеску гомогенизированного образца $0,50 \pm 0,05$ г и переносят в пластиковый флакон на 15 см^3 , добавляют 25 мм^3 внутреннего стандарта с концентрацией 10000 нг/см^3 и выдерживают в темном месте 20 мин. Добавляют $0,5 \text{ см}^3$ воды и 2 см^3 ацетонитрила, перемешивают на вортексе 1 мин. Добавляют 350 мг MgSO_4 и 100 мг NaCl (4.2.8), встряхивают и помещают в ультразвуковую баню на 30 мин при 30°C . Центрифугируют в течении 10 мин при 4000 об/мин. Отбирают $1,5 \text{ см}^3$ надосадочной жидкости в эппендорф на 2 см^3 и добавляют 100 мг MgSO_4 (4.2.7) и 450 мг сорбента C18 (4.2.9), встряхивают на вортексе 10 мин и центрифугируют при 15000 об/мин. Отбирают $1,0 \text{ см}^3$ супернатанта в виалу и упаривают досуха в потоке воздуха при 45°C . Реконструируют в 200 мм^3 метанола, переносят во вставку для виалы и анализируют методом ВЭЖХ/МС-МС.

10.4.3 Яйца и яичная продукция

Подготовка проб яичных продуктов – по ГОСТ 31720-2012 (подраздел 4.3).

Яйца отделяют от скорлупы и перемешивают на гомогенизаторе, яичную продукцию тщательно перемешивают. Взвешивают на весах (4.1.7) 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке. Пипеточным дозатором в пробирку вносят $0,05 \text{ см}^3$ раствора внутренних стандартов D_1 (10.1.3). Далее обработку пробы и подготовку к хроматографированию проводят по 10.4.1.

10.4.4 Подготовка проб кормов

Отобранную пробу корма измельчают на гомогенизаторе. Взвешивают 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке. Пипеточным дозатором в пробирку вносят $0,05 \text{ см}^3$ раствора внутренних стандартов D_1 (10.1.3). Далее обработку пробы и подготовку к хроматографированию проводят по 10.4.1.

11 Порядок выполнения измерений

При выполнении измерений в инжектор хроматографа вводят анализируемый раствор, полученный в п. 10.4. Подвижную фазу и реагенты предварительно проверяют на наличие зоалена 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 концентрации анализируемого вещества. При этом в программе, при обсчете, концентрация внутреннего стандарта в образце принимается равной 50 нг/см³, а в случае образца, анализируемого повторно и разведенного согласно приложению Б, – 5 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 X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой концентрации 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 концентрации 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 $n = 4$

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

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.

12.4 В случае если результат анализа превышает верхний предел диапазона измерения, проводится повторный анализ раствора подготовленной пробы (по п. 10.4), который разводят в 10 раз согласно приложению Б. Полученные результаты обрабатывают согласно п.12.1 – 12.3, устанавливая характеристики погрешности, соответствующие найденным значениям в разбавленной пробе.

12.5 Если после разбавления результат все равно превышает верхний предел измерения, то выдают результат в следующей формулировке: «Содержание анализа превышает верхний предел диапазона измерения методики».

13 Оформление результатов измерений

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

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

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

$U_{k,c}$ – значение относительной расширенной неопределенности, % (таблица 2);

d – коэффициент разбавления (принимает следующие значения: 1 – при отсутствии разбавления и 10 при разбавлении в 10 раз согласно Приложению Б).

14 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности

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

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

где X_1 и X_2 – результаты измерений массовой концентрации аналита, полученные в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности, млрд⁻¹ (мкг/кг);

R_L – предел внутрилабораторной прецизионности, выраженный в относительных единицах. Значения предела внутрилабораторной прецизионности приведены в таблице 6.

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

Таблица 6 – Относительные значения пределов внутрилабораторной прецизионности и воспроизводимости при доверительной вероятности $P=0,95$

Объект	Диапазон измерений массовой концентрации, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	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 условиях воспроизводимости), R , %
Мясо, мясная продукция и продукты	От 1 до 1000	14	17

Объект	Диапазон измерений массовой концентрации, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности Р=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R _л , %	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности Р=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях воспроизводимости), R, %
убоя всех видов убойных животных и птиц	включ.		
Жир, шпик	От 1 до 1000 включ.	28	33
Субпродукты всех видов убойных животных и птиц	От 50 до 500 включ.	28	33
	От 500 до 5000 включ.	14	17
Корма и кормовое сырьё	От 50 до 5000 включ.	12	14
Яйца и яичная продукция	От 50 до 500 включ.	19	22
	От 500 до 5000 включ.	12	14

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_k) 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_k);
- 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 зоалена (рабочие пробы с добавкой).

Рабочие пробы для проведения оперативного контроля выбирают таким образом, чтобы массовая концентрация зоалена 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 зоалена C_0 , в зависимости от показателя внутрилабораторной прецизионности.

В соответствии с данной методикой в условиях повторяемости получают результаты контрольных измерений массовой концентрации зоалена в рабочей пробе – X_n и в рабочей пробе с внесённой известной добавкой зоалена $X_{n+\theta}$.

Результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X_{n+\theta} - X_n - C_0, \text{ мкг/кг} \quad (6)$$

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta_{\text{Л } X_{n+\partial}}^2 + \Delta_{\text{Л } X_n}^2}, \text{ мкг/кг}, \quad (7)$$

где $\pm \Delta_{\text{Л } X_{n+\partial}}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой концентрации зоалена в пробе с добавкой, рассчитанная по формуле:

$$\Delta_{\text{Л } X_{n+\partial}} = 0,01 \delta_{\text{Л}} X_{n+\partial}, \text{ мкг/кг}, \quad (8)$$

$\pm \Delta_{\text{Л } X_n}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой концентрации зоалена в пробе, рассчитанная по формуле:

$$\Delta_{\text{Л } X_n} = 0,01 \delta_{\text{Л}} X_n, \text{ мкг/кг}, \quad (9)$$

$\pm \delta_{\text{Л}}$ – 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 зоалена на уровне нижней границы диапазона измерений, установленного методикой измерений, то эта рабочая проба с введённой добавкой зоалена C_∂ может служить образцом для контроля с аттестованным значением C_∂ . В этом случае результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X - C_\partial, \text{ мкг/кг}, \quad (11)$$

где X – результат контрольного измерения массовой концентрации зоалена в образце для контроля;

C_∂ – массовая концентрация введенной добавки, мкг/кг.

Приложение А
(информационное)

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

Приложение Б

(обязательное)

Разведение конечного раствора образца с концентрацией аналита, превышающей верхний предел диапазона измерений в $d=10$ раз

Б.1 Из рабочего раствора подготовленной для анализа пробы (п. 10.4.), с помощью дозатора отбирают $0,1 \text{ см}^3$ и помещают в новую виалу для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

Б.2. В виалу с помощью дозатора добавляют $0,9 \text{ см}^3$ раствора фазы А и перемешивают. Полученный раствор используют для повторного анализа.

МУ А-1/128

(обозначение документа,
регламентирующего методику измерений)

Ключевые слова:

Зоален, продукция животноводства, мониторинг

Руководитель разработки:

Заместитель директора

ФГБУ «ВГНКИ»

(должность)



(личная подпись)

А.В. Третьяков

(инициалы, фамилия)

Исполнители:

Старший научный со-
трудник отдела безо-
пасности пищевой и
кормовой продукции



И.В. Батов

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

Директор института
молекулярной
тераностики

(должность)



(личная подпись)

А.Е. Носырев

(инициалы, фамилия)

