

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



Методические указания

МУ А-1/134

УТВЕРЖДЕНО
Заместитель директора
ФГБУ «ВГНКИ»



А.В. Третьяков

20 24 г.

(на основании доверенности
от 24.06.2024 № 23)

Методика (метод) измерений

**Методические указания по арбитражному определению остаточного
содержания цефалоспоринов и их метаболитов в продукции
животноводства 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

99.1.31.2024.49208

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 - 0120/2024

(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

99.1.31.2024.49208

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

ВВЕДЕН (А) ВПЕРВЫЕ.

Содержание

1 Назначение и область применения	1
2 Нормативные ссылки	2
3 Требования к показателям точности измерения	6
4 Требования к средствам измерений, вспомогательному оборудованию, материалам, реактивам	20
5 Метод измерений	23
6 Требования безопасности и охрана окружающей среды	24
7 Требования к квалификации операторов	24
8 Требования к условиям измерений	24
9 Отбор и хранение проб	24
10 Подготовка к выполнению измерений	25
11 Выполнение измерений	43
12 Обработка результатов измерений	44
13 Оформление результатов измерений	45
14 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности	45
15 Оперативный контроль процедуры измерений	60
Приложение А	64

1 Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает методику измерений массовой доли цефалоспоринов и их метаболитов в продукции животноводства методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором и 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.

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

Методика измерений входит в состав Методических указаний по арбитражному определению цефалоспоринов и их метаболитов в продукции животноводства методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.

Диапазон измерений массовой доли индивидуальных цефалоспоринов и их метаболитов представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Диапазоны измерений массовой доли определяемых соединений

Соединение	Диапазон измерения в образцах молока и молочной продукции, мяса и иных продуктов убоя, мясной продукции от всех видов убойных животных и птиц, жира, шпика, сливочного масла, яйцах птицы и продуктах их переработки, меде, продуктах на его основе, пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры, млрд ⁻¹ (мкг/кг)
Суммарное содержание цефтиофура, десфууроил цефтиофура и десфууроил цефтиофур цистеин дисульфида	от 30 до 3000 включ.
Цефацетрил	от 5 до 500 включ.
Цефалексин	от 5 до 500 включ.
Цефалоним	от 5 до 500 включ.
Цефоперазон	от 5 до 500 включ.
Цефкином	от 5 до 500 включ.
Цефапирин	от 5 до 500 включ.
Дезацетил цефапирин	от 5 до 500 включ.
Цефадроксил	от 5 до 500 включ.
Цефсулодин	от 5 до 500 включ.
Цефотаксим	от 5 до 500 включ.
Цефтибутен	от 5 до 500 включ.
Цефподоксим	от 5 до 500 включ.
Цефпиром	от 5 до 500 включ.
Цефотиам	от 5 до 500 включ.
Цефаклор	от 5 до 500 включ.
Цефетамет	от 5 до 500 включ.
Цефепим	от 5 до 500 включ.

2 Нормативные ссылки

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

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

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

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

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

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

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

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

ГОСТ 12.2.085-2017 Арматура трубопроводная. Клапаны предохранительные. Выбор и расчет пропускной способности

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

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

ГОСТ 19792-2017 Мёд натуральный. Технические условия

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

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

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

ГОСТ 27752-88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 28311-89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

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

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

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

ГОСТ 31654–2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия

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

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

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

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

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

ГОСТ 4288–76 Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ФС.2.2.0020.18 Вода очищенная

Примечание – При пользовании настоящим документом на методику измерений целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год.

Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим документом на методику измерений следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Требования к показателям точности¹ измерения

Настоящая методика обеспечивает выполнение измерений массовой доли цефалоспоринов и их метаболитов с расширенной неопределенностью результатов измерений при коэффициенте охвата $k = 2$, указанной в таблицах 2 – 5.

Таблица 2 – Показатели точности методики (значения относительной расширенной неопределенности результатов измерений, относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) в образцах мяса и иных продуктов убоя, мясной продукции от всех видов убойных животных и птиц (за исключением субпродуктов), яиц птицы и продуктах их переработки, меде, продуктах на его основе, пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно расширенной неопределенности* при коэффициенте охвата $k = 2$, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости σ_r , %)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости σ_R , %)	Предел повторяемости r , % (при $P = 0,95$, $n = 2$)
Цефакетрил	от 5 до 50 включ.	50	16	25	44
	св. 50 до 500 включ.	21	4	9	11
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	43	14	21	39

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

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно й расширенной неопределенн ости* при коэффициент е охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительно е стандартное отклонение повторяемости σ_r , %	Показатель воспроизводим ости (относительное стандартное отклонение воспроизводим ости) σ_R , %	Предел повторяемости , r, % (при P = 0,95, n = 2)
	от 50 до 500 включ.	18	5	9	14
Цефалоним	от 5 до 50 включ.	26	6	12	17
	от 50 до 500 включ.	17	4	8	11
Цефоперазон	от 5 до 50 включ.	33	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	16	4	8	11
Цефкином	от 5 до 80 включ.	32	8	14	22
	от 80 до 500 включ.	21	5	10	14
Цефапирин	от 5 до 80 включ.	24	6	12	17
	от 80 до 500 включ.	20	5	10	14
Дезацетил цефапирин	от 5 до 50 включ.	49	8	19	22
	от 50 до 500 включ.	25	6	12	17
Цефадроксил	от 5 до 50 включ.	26	6	12	17

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно й расширенной неопределенн ости* при коэффициент е охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительно е стандартное отклонение повторяемости σ_r , %	Показатель воспроизводим ости (относительное стандартное отклонение воспроизводим ости) σ_R , %	Предел повторяемости , r, % (при P = 0,95, n = 2)
	от 50 до 500 включ.	18	4	8	11
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	41	12	20	33
	от 50 до 500 включ.	25	6	12	17
Цефотаксим	от 5 до 50 включ.	40	11	20	30
	от 50 до 500 включ.	20	5	10	14
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	43	14	21	39
	от 50 до 500 включ.	20	6	10	17
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	25	6	12	17
	от 50 до 500 включ.	17	4	8	11
Цефпиром	от 5 до 50 включ.	33	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	21	5	10	14
Цефотиам	от 5 до 50 включ.	49	18	24	50

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно й расширенной неопределенн ости* при коэффициент е охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительно е стандартное отклонение повторяемости σ_r , %	Показатель воспроизводим ости (относительное стандартное отклонение воспроизводим ости) σ_R , %	Предел повторяемости , r, % (при P = 0,95, n = 2)
	от 50 до 500 включ.	32	10	15	28
Цефаклор	от 5 до 50 включ.	32	9	15	25
	от 50 до 500 включ.	17	5	8	14
Цефетамет	от 5 до 50 включ.	21	5	10	14
	от 50 до 500 включ.	13	3	6	8
Цефепим	от 5 до 50 включ.	29	7	14	19
	от 50 до 500 включ.	21	5	10	14
Цефтиофур и метаболиты	от 30 до 300 включ.	23	4	8	11
	от 300 до 3000 включ.	13	3	6	8
*-Соответствует относительному значению точности при доверительной вероятности P=0,95					

Таблица 3 – Показатели точности методики (значения относительной расширенной неопределенности результатов измерений, относительное

среднеквадратическое отклонение повторяемости) в образцах субпродуктов от всех видов убойных животных и птиц

Определяемый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно расширенной неопределенности * при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости и (относительное стандартное отклонение повторяемости и σ_B , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %	Предел повторяемости, г, % (при P = 0,95, n = 2)
Цефакетрил	от 5 до 50 включ.	32	8	15	22
	от 50 до 500 включ.	19	5	9	14
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	45	9	20	25
	от 50 до 500 включ.	18	4	8	11
Цефалоним	от 5 до 50 включ.	25	8	12	22
	от 50 до 500 включ.	17	4	8	11
Цефоперазон	от 5 до 50 включ.	32	11	16	30
	от 50 до 500 включ.	13	4	6	11
Цефкином	от 5 до 50 включ.	31	8	15	22
	от 50 до 500 включ.	20	5	9	14

Определяемый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно расширенной неопределенности * при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости и (относительное стандартное отклонение повторяемости и σ_B , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %	Предел повторяемости, г, % (при P = 0,95, n = 2)
Цефепим	от 5 до 50 включ.	27	6	12	17
	от 50 до 500 включ.	23	5	10	14
Дезацетил цефепим	от 5 до 50 включ.	45	8	20	22
	от 50 до 500 включ.	26	6	12	17
Цефадроксил	от 5 до 50 включ.	49	18	24	50
	от 50 до 500 включ.	25	8	12	22
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	57	13	26	36
	от 50 до 500 включ.	35	11	17	30
Цефотаксим	от 5 до 50 включ.	30	7	14	19
	от 50 до 500 включ.	26	4	8	11
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	50	20	25	55

Определяемый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно й расширенной неопределенности * при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости и (относительное стандартное отклонение повторяемости и σ_B , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %	Предел повторяемости, г, % (при P = 0,95, n = 2)
	от 50 до 500 включ.	20	6	10	17
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	24	6	12	17
	от 50 до 500 включ.	23	4	10	11
Цефпиром	от 5 до 50 включ.	27	6	12	17
	от 50 до 500 включ.	22	5	10	14
Цефотиам	от 5 до 50 включ.	46	16	22	44
	от 50 до 500 включ.	22	5	10	14
Цефаклор	от 5 до 50 включ.	36	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	21	4	8	11
Цефетамет	от 5 до 50 включ.	33	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	17	4	8	11

Определяемый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности * при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости и (относительное стандартное отклонение повторяемости и σ_B , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %	Предел повторяемости, г, % (при P = 0,95, n = 2)
Цефепим	от 5 до 50 включ.	41	13	20	36
	от 50 до 500 включ.	15	4	7	11
Цефтиофур и метаболиты	от 30 до 300 включ.	32	9	15	25
	от 300 до 3000 включ.	15	4	7	11
*-Соответствует относительному значению точности при доверительной вероятности P=0,95					

Таблица 4 – Показатели точности методики (значения относительной расширенной неопределенности результатов измерений, относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) в образцах молока и молочной продукции

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно й расширенной неопределенн ости* при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемост и (относительно е стандартное отклонение повторяемост и σ_r , %	Показатель воспроизводим ости (относительное стандартное отклонение воспроизводим ости) σ_R , %	Предел повторяемост и, г, % (при P = 0,95, n = 2)
Цефакетрил	от 5 до 50 включ.	34	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	21	5	10	14
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	53	9	23	25
	от 50 до 500 включ.	16	4	8	11
Цефалоним	от 5 до 50 включ.	33	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	17	3	8	8
Цефоперазон	от 5 до 80 включ.	36	12	18	33
	от 80 до 500 включ.	16	4	8	11
Цефкином	от 5 до 50 включ.	51	8	24	22
	от 50 до 500 включ.	22	5	10	14
Цефапирин	от 5 до 50 включ.	30	7	14	19
	от 50 до 500 включ.	28	5	10	14

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно й расширенной неопределенн ости* при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемост и (относительно е стандартное отклонение повторяемост и σ_r , %	Показатель воспроизводим ости (относительное стандартное отклонение воспроизводим ости) σ_R , %	Предел повторяемост и, г, % (при P = 0,95, n = 2)
Дезацетил цефапирин	от 5 до 50 включ.	45	8	20	22
	от 50 до 500 включ.	21	5	10	14
Цефадроксил	от 5 до 50 включ.	48	18	24	50
	от 50 до 500 включ.	24	6	12	17
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	57	13	26	36
	от 50 до 500 включ.	31	10	15	28
Цефотаксим	от 5 до 50 включ.	30	7	14	19
	от 50 до 500 включ.	23	3	6	8
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	72	20	35	55
	от 50 до 500 включ.	24	6	12	17
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	30	6	15	17
	от 50 до 500 включ.	27	4	12	11

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно расширенной неопределенности* при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости и σ_r , %)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %	Предел повторяемости и, г, % (при P = 0,95, n = 2)
Цефпиром	от 5 до 50 включ.	26	6	12	17
	от 50 до 500 включ.	20	5	10	14
Цефотиам	от 5 до 50 включ.	50	16	24	44
	от 50 до 500 включ.	18	5	8	14
Цефаклор	от 5 до 50 включ.	36	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	18	3	6	8
Цефетамет	от 5 до 50 включ.	33	8	16	22
	от 50 до 500 включ.	17	4	8	11
Цефепим	от 5 до 50 включ.	43	14	21	39
	от 50 до 500 включ.	13	3	6	8
Цефтиофур и метаболиты	от 30 до 300 включ.	21	5	10	14
	от 300 до 3000 включ.	16	4	8	11

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительно расширенной неопределенности * при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости и σ_r , %)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %	Предел повторяемости и, г, % (при P = 0,95, n = 2)
*-Соответствует относительному значению точности при доверительной вероятности P=0,95					

Таблица 5 – Показатели точности методики (значения относительной расширенной неопределенности результатов измерений, относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) в образцах жира, шпика и сливочного масла

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности * при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости σ_r , %)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %
Цефакетрил	от 5 до 500 включ.	24	7	11
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	30	12	15
	св. 50 до 500 включ.	20	8	10
Цефалоним	от 5 до 500 включ.	28	12	14

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности* при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости σ_r , %)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %
Цефоперазон	от 5 до 500 включ.	25	10	12
Цефкином	от 5 до 500 включ.	22	10	11
Цефапирин	от 5 до 500 включ.	22	10	11
Дезацетил цефапирин	от 5 до 500 включ.	25	10	12
Цефадроксил	от 5 до 500 включ.	28	12	14
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	21	8	10
	св. 50 до 500 включ.	13	5	6
Цефотаксим	от 5 до 500 включ.	28	12	14
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	30	12	15
	св. 50 до 500 включ.	21	8	10
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	30	12	15
	св. 50 до 500 включ.	20	8	10

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Значение относительной расширенной неопределенности* при коэффициенте охвата $k = 2$, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости σ_r , %)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости σ_R , %)
Цефпиром	от 5 до 500 включ.	18	6	9
Цефотиам	от 5 до 500 включ.	21	9	10
Цефаклор	от 5 до 500 включ.	23	10	11
Цефетамет	от 5 до 500 включ.	24	10	12
Цефепим	от 5 до 500 включ.	30	12	15
Цефтиофур и метаболиты	от 30 до 300 включ.	20	7	9
	св. 300 до 3000 включ.	15	6	7
*-Соответствует относительному значению точности 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, вспомогательные устройства, материалы и реактивы.

4.1 Средства измерений, вспомогательные устройства, расходные материалы

4.1.1 Хроматомасс-спектрометр с гибридным квадрупольным анализатором с диапазоном измерений m/z от 5 до 1200 «5500 QTRAP» (AB SCIEX, Канада, США) и компьютером с установленным программным обеспечением Analyst 1.5.1 (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 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)

4.1.6 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 pH-метр с набором электродов, с диапазоном измерений от 0 до 14 ед. pH, с пределом абсолютной погрешности измерений $\pm 0,01$ pH

4.1.8 Колбы мерные 2-100-2, 2-250-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74

4.1.9 Пипетки одноканальные переменной вместимости 2,5 – 10,0 мм³, 5 – 25 мм³, 20 – 100 мм³, 200 – 1000 мм³ по ГОСТ 29227

4.1.10 Цилиндры 1-100 (50)-2 по ГОСТ 1770

4.1.11 Пипетки стеклянные градуированные по ГОСТ 29227

4.1.12 Колбы конические Кн-1-500-29/32 ТС по ГОСТ 25336

4.1.13 Пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см³ с завинчивающимися крышками

4.1.14 Пробирки П-2-10-14/23ХС по ГОСТ 1770

4.1.15 Виалы (флаконы) стеклянные вместимостью 2 см³ с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками 9 мм

4.1.16 Измельчитель-гомогенизатор со скоростью измельчающей насадки от 200 до 5000 об/мин

4.1.17 Термостат воздушный для обеспечения температурного режима термостатирования от 5 °С до 70 °С

4.1.18 Модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 60°С

4.1.19 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

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

4.1.21 Картриджи для ТФЭ «Oasis HLB» 3cc, 60 мг (Waters, Ирландия)

4.1.22 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

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

4.1.24 Шкаф сушильный лабораторный с рабочим диапазоном температур от 50°С до 200°С

4.1.25 Система получения деионизированной воды высокой чистоты

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

4.1.27 Камера лабораторная морозильная с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от минус 20 °С до минус 40 °С

4.1.28 Микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 и 2 см³.

4.2 Реактивы

4.2.1 Метанол, квалификация "х.ч.",

4.2.2 Кислота муравьиная, квалификация "ч.д.а." по ГОСТ 5848,

4.2.3 Ацетонитрил, квалификация "х.ч.",

4.2.4 Бикарбонат аммония, квалификация "ч.д.а.",

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

4.2.6 Гидрооксид натрия, квалификация "ч.д.а.",

4.2.7 Изеооктан, "ч.д.а.",

4.2.8 Йодацетомид, 98% (Sigma, I6125),

4.2.9 Дитиоэритритол, 98% (Sigma, D8225),

4.2.10 Вода деионизованная по ФС.2.2.0020.18,

4.2.11 MgSO₄, квалификация "х.ч.",

4.2.12 NaCl, квалификация "х.ч.",

4.2.13 Обращенно-фазный сорбент C₁₈.

4.3 Стандартные образцы

4.3.1 Цефтиофур гидрохлорид, (Fluka, 32422),

4.3.2 Десфуроил цефтиофур (Santa Cruz Biotechnology, sc-207534),

4.3.3 Десфуроил цефтиофур цистеин дисульфид (TRC, D289905),

4.3.4 Цефацетрил натрия (Fluka, 32389),

4.3.5 Цефалексин (Fluka, 33989),

4.3.6 Цефалоним гидрат (Fluka, 32904),

4.3.7 Цефоперазон дигидрат (Fluka, 32426),

4.3.8 Цефкином сульфат (Fluka, 32472),

4.3.9 Цефепим натрия соль (Santa Cruz Biotechnology, sc-239481),

- 4.3.10 Дезацетил цефапирин натриевая соль (TRC, D288970),
- 4.3.11 Цефадроксил моногидрат (Santa Cruz Biotechnology, sc-211036),
- 4.3.12 Цефсулодин гидрат натриевая соль (Santa Cruz Biotechnology, sc-257222),
- 4.3.13 Цефотаксим (Santa Cruz Biotechnology, sc-353131),
- 4.3.14 Цефтибутен дигидрат (Santa Cruz Biotechnology, sc-211048),
- 4.3.15 Цефподоксим прокситим (Santa Cruz Biotechnology, sc-211044),
- 4.3.16 Цефпиром сульфат (Santa Cruz Biotechnology, sc-217860),
- 4.3.17 Цефотиам, (Sigma, SML0056),
- 4.3.18 Цефаклор (Fluka, 72579),
- 4.3.19 Цефетамет пивоксил (Santa Cruz Biotechnology, sc-394282),
- 4.3.20 Цефепим (Santa Cruz Biotechnology, sc-278815),
- 4.3.21 Цефадроксил-Д4 (TRC, C235752),
- 4.3.22 Цефапирин-Д4 (TRC, C261502),
- 4.3.23 Десфуриил цефтиофур-Д3 (TRC, D289982).

Содержание основного вещества в стандартных образцах не должно быть ниже 90%.

Примечание 1 – допускается применение стандартных образцов веществ с содержаниями основного вещества, которые отличаются от приведенных выше (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).

6 Требования безопасности и охрана окружающей среды

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

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

Операции по приготовлению и использованию градуировочных растворов и их изотопно-меченых аналогов проводят в вытяжном шкафу. В связи с тем, что при работе на хроматографе с масс-спектрометрическим детектором используют сжатые газы, следует соблюдать ГОСТ 12.2.085. При выполнении измерений соблюдают 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 ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием допускают лиц, прошедших соответствующее обучение и освоивших настоящую методику измерений.

8 Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

температура воздуха от 10 °С до 30 °С,

относительная влажность воздуха от 30 % до 80 %.

Хроматографические измерения проводят в условиях, приведенных 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 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 продуктов переработки животных жиров – по ГОСТ ISO 5555, ГОСТ 8285.

9.8 Отбор проб кишечного сырья – по ГОСТ 33790, ГОСТ 33791

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

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

9.11. Отбор проб мёда по ГОСТ 19792.

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

9.13. Отобранные пробы, при отсутствии возможности испытаний в день 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 растворов подвижной фазы для ВЭЖХ

Подвижная фаза А

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ с помощью мерного цилиндра вносят 995 см³ деионизованной воды и 5 см³ муравьиной кислоты. Раствор перемешивают.

Подвижная фаза Б

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ с помощью мерного цилиндра вносят 995 см³ метанола и 5 см³ муравьиной кислоты. Раствор перемешивают.

Срок хранения растворов – 2 месяца.

10.1.2 Приготовление аммонийного буферного раствора с рН 9

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ с помощью мерного цилиндра вносят 900 см³ деионизованной воды, добавляют 0,79 г бикарбоната аммония и перемешивают до полного растворения. Доводят рН раствора 30% раствором аммиака до 9. Доводят объем раствора до 1000 см³ водой и перемешивают.

Срок хранения раствора – 4 недели при температуре 4 °С.

10.1.3 Приготовление ацетатного буферного раствора с рН 7

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ с помощью мерного цилиндра вносят 900 см³ деионизованной воды, добавляют 0,76 г ацетата аммония и перемешивают до полного растворения. Доводят рН раствора 30% раствором аммиака до 7. Доводят объем раствора до 1000 см³ водой и перемешивают.

Срок хранения раствора – 4 недели при температуре 4 °С.

10.1.4 Приготовление 0,4 % раствора дитиозэритритола

В мерную колбу вместимостью 250 см³ добавляют 1 г дитиозэритритола, доводят до метки аммонийным буферным раствором с рН 9 (9.1.2) и перемешивают до полного растворения.

Срок хранения раствора – 2 недели при температуре 4 °С.

10.1.5 Приготовление 14 % раствора иодацетамида

В мерную колбу вместимостью 100 см³ добавляют 14 г иодацетамида, доводят до метки ацетатным буферным раствором с рН 7 (9.1.3) и перемешивают до полного растворения.

Срок хранения раствора – 2 недели при температуре 4 °С.

10.1.6 Приготовление 0,01 М раствора гидроксида натрия

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ добавляют 0,4 г гидроксида натрия, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают до полного растворения.

Срок хранения раствора – 1 месяц при температуре 24 °С.

10.1.7 Приготовление рабочих растворов цефтиофура и его метаболитов

10.1.7.1 Приготовление исходных растворов (C₁₀) с массовой концентрацией 200 мкг/см³

На микровесах взвешивают массу каждого реактива, эквивалентную 5,0 мг основного вещества (с учетом массовой доли в реактиве), помещают навески в мерные колбы вместимостью 25 см³, вносят 25 см³ метанола, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на 5 минут в режиме перемешивания.

Срок хранения растворов при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 1 год.

10.1.7.2 Приготовление рабочего раствора (C₁₁)

С помощью автоматического дозатора отбирают по 0,1 см³ растворов C₁₀ и переносят эти объемы в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C₁₁ составляет 2 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 6 месяцев.

10.1.7.3 Приготовление рабочего раствора (C₁₂)

С помощью мерной пипетки вместимостью 5,0 см³ отбирают 5,0 см³ раствора C₁₁ и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C₁₂ составляет 1 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 3 месяца.

10.1.7.4 Приготовление рабочего раствора (C_{13})

С помощью мерной пипетки вместимостью 1,0 см³ отбирают 1,0 см³ раствора C_{12} и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C_{13} составляет 0,1 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 1 неделя.

10.1.7.5 Приготовление исходного раствора (D_{10}) внутреннего стандарта цефтиофура с массовой концентрацией 200 мкг/см³

На микровесах взвешивают массу реактива внутреннего стандарта, эквивалентную 5,0 мг основного вещества с учетом массовой доли, помещают навеску в мерную колбу вместимостью 25 см³, вносят 25 см³ метанола, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на 5 минут в режиме перемешивания.

Срок хранения растворов при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 1 год.

10.1.7.6 Приготовление рабочего раствора (D_{11}) внутреннего стандарта

С помощью пипеточного дозатора вместимостью 0,1 см³ отбирают 0,1 см³ раствора D_{10} и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутреннего стандарта в растворе D_{11} составляет 2 мкг/см³.

Срок хранения растворов при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 6 месяцев.

10.1.7.7 Приготовление рабочего раствора (D_{12}) внутреннего стандарта

С помощью пипеточного дозатора вместимостью 5 см^3 отбирают 5 см^3 раствора D_{11} и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см^3 , доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутренних стандартов в растворе D_{12} составляет 1 мкг/см^3 .

Срок хранения раствора – 3 месяца при температуре от минус 30°C до минус 40°C .

10.1.8 Приготовление рабочих растворов цефалоспоринов, не содержащих цефтиофура и его метаболиты

10.1.8.1 Приготовление исходных растворов (C_{20}) с массовой концентрацией 200 мкг/см^3

На микровесах взвешивают массу каждого реактива, эквивалентную $5,0 \text{ мг}$ основного вещества (с учетом массовой доли в реактиве), помещают навески в мерные колбы вместимостью 25 см^3 , вносят 25 см^3 метанола, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на 5 минут в режиме перемешивания.

Срок хранения растворов при температуре от минус 30°C до минус 40°C – 1 год.

10.1.8.2 Приготовление рабочего раствора (C_{21})

С помощью автоматического дозатора отбирают по $0,1 \text{ см}^3$ растворов C_{20} и переносят эти объемы в мерную пробирку вместимостью 10 см^3 , доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C_{21} составляет 2 мкг/см^3 .

Срок хранения раствора при температуре от минус 30°C до минус 40°C – 6 месяцев.

10.1.8.3 Приготовление рабочего раствора (C_{22})

С помощью мерной пипетки вместимостью $5,0 \text{ см}^3$ отбирают $5,0 \text{ см}^3$ раствора C_{21} и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см^3 , доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C_{22} составляет 1 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 3 месяца.

10.1.8.4 Приготовление рабочего раствора (C_{23})

С помощью мерной пипетки вместимостью 1,0 см³ отбирают 1,0 см³ раствора C_{22} и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация каждого вещества в растворе C_{23} составляет 0,1 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 1 неделя.

10.1.8.5 Приготовление исходного раствора (D_{20}) внутренних стандартов цефалоспоринов с массовой концентрацией 200 мкг/см³

На микровесах взвешивают массы реактивов внутренних стандартов, эквивалентные 5,0 мг основных веществ с учетом массовой доли, помещают навески в мерные колбы вместимостью 25 см³, вносят 25 см³ метанола, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на 5 минут в режиме перемешивания.

Срок хранения растворов при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 1 год.

10.1.8.6 Приготовление рабочего раствора (D_{21}) внутренних стандартов

С помощью пипеточного дозатора вместимостью 0,1 см³ отбирают 0,1 см³ растворов D_{20} и переносят эти объемы в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутреннего стандарта в растворе D_{21} составляет 2 мкг/см³.

Срок хранения растворов при температуре от минус 30 °С до минус 40 °С – 6 месяцев.

10.1.8.7 Приготовление рабочего раствора (D_{22}) внутренних стандартов

С помощью пипеточного дозатора вместимостью 5 см^3 отбирают 5 см^3 раствора D_{21} и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см^3 , доводят объем раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутренних стандартов в растворе D_{22} составляет 1 мкг/см^3 .

Срок хранения раствора – 3 месяца при температуре от - минус 30°C до минус 40°C .

10.1.9 Приготовление градуировочных растворов ($G_{11} - G_{15}$) цефтиофура и его метаболитов

10.1.9.1 Приготовление градуировочного раствора (G_{11}) с массовой концентрацией каждого вещества 3000 нг/см^3

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0\text{ г}$ образца, не содержащего цефтиофура и его метаболитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,5\text{ см}^3$ раствора C_{11} и $0,05\text{ см}^3$ раствора D_{12} , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

10.1.9.2 Приготовление градуировочного раствора (G_{12}) с массовой концентрацией 1500 нг/см^3

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0\text{ г}$ образца, не содержащего цефтиофура и его метаболитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,25\text{ см}^3$ раствора C_{11} и $0,05\text{ см}^3$ раствора D_{12} , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

10.1.9.3 Приготовление градуировочного раствора (G_{13}) с массовой концентрацией 300 нг/см^3

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0\text{ г}$ образца, не содержащего цефтиофура и его метаболитов (бланк). С помощью пипеточного

дозатора к образцу добавляют 0,1 см³ раствора C₁₂ и 0,05 см³ раствора D₁₂, встряхивают на шейкере-вортке 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

10.1.9.3 Приготовление градуировочного раствора (G₁₄) с массовой концентрацией 90 нг/см³

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего цефтиофура и его метаболитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,03 см³ раствора C₁₂ и 0,05 см³ раствора D₁₂, встряхивают на шейкере-вортке 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

9.1.9.3 Приготовление градуировочного раствора (G₁₅) с массовой концентрацией 30 нг/см³

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего цефтиофура и его метаболитов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,1 см³ раствора C₁₃ и 0,05 см³ раствора D₁₂, встряхивают на шейкере-вортке 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

Растворы G₁₁ – G₁₅ хранят в холодильнике при температуре от 2 °С до 4 °С. Срок хранения растворов не более 1 дня.

Для перерастворения градуировочных растворов используется мобильная фаза А.

10.1.10 Приготовление градуировочных растворов (G₂₁ – G₂₅) цефалоспоринов, не содержащих цефтиофур и его метаболиты

10.1.10.1 Приготовление градуировочного раствора (G₂₁) с массовой концентрацией каждого вещества 500 нг/см³

В пластиковый флакон вместимостью 15 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего цефалоспоринов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,25 см³ раствора C₂₁ и 0,05 см³ раствора D₂₂, встряхивают на шейкере-вортке 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

10.1.10.2 Приготовление градуировочного раствора (G_{22}) с массовой концентрацией 100 нг/см^3

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0 \text{ г}$ образца, не содержащего цефалоспоринов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,1 \text{ см}^3$ раствора C_{22} и $0,05 \text{ см}^3$ раствора D_{22} , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

10.1.10.3 Приготовление градуировочного раствора (G_{23}) с массовой концентрацией 50 нг/см^3

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0 \text{ г}$ образца, не содержащего цефалоспоринов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,05 \text{ см}^3$ раствора C_{22} и $0,05 \text{ см}^3$ раствора D_{22} , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

10.1.10.3 Приготовление градуировочного раствора (G_{24}) с массовой концентрацией 10 нг/см^3

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0 \text{ г}$ образца, не содержащего цефалоспоринов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,1 \text{ см}^3$ раствора C_{23} и $0,05 \text{ см}^3$ раствора D_{22} , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

10.1.10.3 Приготовление градуировочного раствора (G_{25}) с массовой концентрацией 5 нг/см^3

В пластиковый флакон вместимостью 15 см^3 помещают $1,0 \text{ г}$ образца, не содержащего цефалоспоринов (бланк). С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют $0,05 \text{ см}^3$ раствора C_{23} и $0,05 \text{ см}^3$ раствора D_{22} , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно 10.4.

Растворы $G_{21} - G_{25}$ хранят в холодильнике при температуре от 2°C до 4°C . Срок хранения растворов не более 1 дня.

Для перерастворения градуировочных растворов используется мобильная фаза А.

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 0,2 см³/мин;
- объем вводимой пробы 20 мм³.

Разделение проводили в режиме градиентного элюирования:

Для цефтиофура и его метаболитов: с 0,0 по 2,0 минуту элюирование 85% подвижной фазы А; со 2,0 по 12,0 минуту градиентное элюирование от 85 % до 35 % фазы А; с 12,0 по 12,1 минуту переход от 35% до 85% фазы А, с 12,1 по 14,0 минуту – уравнивание колонки в 85 % фазы А.

Для остальных цефалоспоринов: с 0,0 по 1,0 минуту элюирование 85% подвижной фазы А; с 1,0 по 17,0 минуту градиентное элюирование от 85 % до 15 % фазы А; с 17,0 по 17,1 минуту переход от 15% до 85% фазы А, с 17,1 по 25,0 минуту – уравнивание колонки в 85 % фазы А.

10.2.2 Параметры настройки масс-спектрометрического детектора

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

№	Определяемое вещество	Ион-предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Время удержания, мин.	Энергия столкновений, эВ / Потенциал на выходе из ячейки, В
1	Десфуриил цефтиофур ацетамид	487	241/ 126	6.82	26/12 40/14
2	Цефацетрил	363.8	114.1/ 208.1	4.37	27/15 13/20

№	Определяемое вещество	Ион- предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Время удержания, мин.	Энергия столкнове ний, эВ / Потенциа л на выходе из ячейки, В
3	Цефалексин	347.8	158.4/ 106.3	7.26	16/10 35/14
4	Цефалоним	458.8	152.2/ 337.1	5.77	26/16 13/15
5	Цефоперазон	646.2	143.7/ 290.4	8.6	41/12 31/12
6	Цефкином	529.3	134.1/ 396.3	5.21	20/13 18/15
7	Цефапирин	424	364.1/ 152.2	4.82	15/15 32/12
8	Дезацетил цефапирин	381.8	112/ 292.1	2.21	30/14 20/15
9	Цефадроксил	363.8	226.1/ 347.1	2.2	23/16 8/15
10	Цефсулодин	533.2	123.3/ 321.2	3.5	18/20 20/14
11	Цефотаксим	456	125.2/ 277.1	7.21	70/7 20/14
12	Цефтибутен	410.8	268/ 139.3	4.65	20/20 40/11
13	Цефподоксим	558.3	410.2/ 156.2	13.38	20/30 40/13
14	Цефпиром	514.9	120.2/ 401.3	4.22	21/15 27/20
15	Цефотиам	526.2	168.2/ 353.2	2.12	39/19 16/16

№	Определяемое вещество	Ион-предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Время удержания, мин.	Энергия столкновений, эВ / Потенциал на выходе из ячейки, В
16	Цефаклор	367.8	118/ 106.1	6.81	46/6 37/20
17	Цефетамет	511.9	241.2/ 298.3	13.53	23/20 26/18
18	Цефепим	482.2	241/ 126.2	13.51	23/23 43/20
19	Цефадроксил-Д4	368.3	212	2.3	13/13
20	Цефапирин-Д4	428.3	296.1	4.8	20/17
21	Десфууроил цефтиофур ацетамид ДЗ	490	244	6.78	28/15

*Внутренний стандарт

Напряжение на зонде (IS): + 5500 В

Разрешение квадруполей Q1/Q3: единичное;

Значение вспомогательного газа (CUR) – 20;

Значение газа источника (GS1) – 45;

Значение распыляющего газа (GS2) – 45;

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 10.1.9 и 10.1.10. Для приготовления проводят обработку проб согласно разделу 10.4 "чистых" проб (бланков), не содержащих действующих веществ, к которым перед обработкой добавляют 0,05 см³ раствора внутренних стандартов с массовой концентрацией каждого вещества 1000 нг/см³ и рабочие растворы аналитов (10.1.7 – 10.1.8) в количестве, необходимом для построения градуировочной зависимости. После элюирования и упаривания элюата до 0,2 мл, остаток перерастворяют в 0,5 см³ фазы А, доводят объем раствора до 1 см³, помещают на 1 минуту в ультразвуковую баню и фильтруют через мембранный фильтр в вials.

Внутренние стандарты выбирают в соответствии с таблицей 7.

Таблица 7 – Внутренние стандарты

№	Определяемое вещество	Внутренний стандарт
1	Десфуроил цефтиофур ацетамид	Десфуроил цефтиофур ацетамид-д3
2	Цефаксетрил	Цефадроксил-Д4
3	Цефалексин	Цефадроксил-Д4
4	Цефалоним	Цефадроксил-Д4
5	Цефоперазон	Цефапирин-Д4
6	Цефкином	Цефадроксил-Д4
7	Цефапирин	Цефапирин-Д4
8	Дезацетил цефапирин	Цефапирин-Д4
9	Цефадроксил	Цефадроксил-Д4
10	Цефсулодин	Цефадроксил-Д4
11	Цефотаксим	Цефадроксил-Д4
12	Цефтибутен	Цефадроксил-Д4
13	Цефподоксим	Цефадроксил-Д4
14	Цефпиром	Цефапирин-Д4
15	Цефотиам	Цефадроксил-Д4
16	Цефаклор	Цефапирин-Д4
17	Цефетамет	Цефапирин-Д4
18	Цефепим	Цефадроксил-Д4

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 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 цефалоспоринов и их метаболитов или других соединений, мешающих определению.

10.4 Подготовка проб

10.4.1 Подготовка мяса и иных продуктов убоя, мясной продукции от всех видов убойных животных и птиц, яиц птицы и продуктов их переработки, меда, продуктов на его основе, пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры для определения суммы концентрации цефтиофура и его метаболитов

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

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

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

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

Яйца отделяют от скорлупы и тщательно перемешивают на гомогенизаторе до однородной массы. Подготовка проб яичных продуктов – по ГОСТ 31720 (подраздел 4.3).

Подготовка проб меда и продуктов на его основе – по ГОСТ 19792 (подраздел 7.2).

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

100 г пробы измельчают на гомогенизаторе (перемешивают в случае меда и молочной продукции) и взвешивают по 1,0 г гомогенизированного образца в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см³. С помощью пипеточного дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ рабочего раствора внутренних стандартов D₁₂ (10.1.7.7), помещают пробирку в шейкер для перемешивания в течение 1-2 мин и выдерживают в темноте при комнатной температуре 10 мин. Добавляют к пробе 7 см³ раствора 0,4% дитиоэритритола (10.1.4) и 2 см³ изookтана (4.2.7), помещают пробирку на 1 мин в шейкер, а затем в водяную нагревательную баню с температурой 50 °C на 20 минут.

После гидролиза образцы центрифугируют на 4700 об/мин при 4 °C в течение 15 минут. Изookтан отбрасывают, а экстракт помещают в новую полипропиленовую пробирку на 15 см³ и добавляют к нему 1 см³ 14 % иодацетамида (10.1.5), перемешивают и помещают в темное место на 50 минут для дериватизации.

Затем экстракт центрифугируют на 4700 об/мин при 4 °C в течение 15 минут и помещают на картридж (Oasis HLB), предварительно последовательно промытый метанолом и аммонийным буфером (10.1.2). После того как проба пройдет через картридж, его промывают картридж 1 см³ аммонийного буфера (10.1.2) и 0,01 М раствором гидроксида натрия (10.1.6). Колонку сушат под вакуумом, созданным с помощью водоструйного насоса в течение 5 мин. Элюируют анализируемые соединения с помощью 3 см³ ацетонитрила (4.2.3) в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³. Пробирку помещают в термостатируемый нагревательный модуль с системой отдувки растворителей и упаривают до 0,2 см³ в токе азота при температуре 40°C.

Полученный остаток доводят до 1 см³ раствором муравьиной кислоты с концентрацией 0,05 % (10.1.1). Экстракт фильтруют и с помощью пипеточного дозатора переносят в виалу для автосамплера жидкостного хроматографа. Полученный раствор используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

10.4.2 Обработка проб молока и молочных продуктов для определения суммы концентрации цефтиофура и его метаболитов

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).

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

10 г сыра, творога или творожных изделий взвешивают на часовом стекле или в чашке Петри, результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака, навеску переносят в ступку и тщательно растирают.

Взвешивают 100 г твердого сыра, результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака, навеску измельчают на гомогенизаторе.

Взвешивают 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см³. С помощью пипеточного дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ раствора внутренних стандартов D₁₂ (10.1.7.7). Дальнейшую обработку проб и подготовку их к хроматографированию проводят по 10.4.1.

10.4.3 Подготовка проб мяса, мясных продуктов и мясных субпродуктов, яиц птицы и продуктов их переработки, меда, продуктов на его основе, пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры для определения цефалоспоринов без цефтиофура и его метаболитов

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).

Яйца отделяют от скорлупы и тщательно перемешивают на гомогенизаторе до однородной массы. Подготовка проб яичных продуктов – по ГОСТ 31720 (подраздел 4.3).

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

100 г пробы измельчают на гомогенизаторе и взвешивают по 1,0 г гомогенизированной ткани в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см³. С помощью пипеточного дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ рабочего раствора внутренних стандартов D₂₂ (10.1.8.7), помещают пробирку в шейкер для перемешивания в течение 1-2 мин и выдерживают в темноте при комнатной температуре 10 мин. Добавляют к пробе 4 см³ ацетонитрила, помещают пробирку на 15 мин в шейкер. Затем центрифугируют при скорости вращения 4000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4°C. Переливают надосадочную жидкость в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³, упаривают остаток до 0,2 см³ в токе азота при 40°C и перерастворяют в 2 см³ дионизованной воды.

Полученный экстракт очищают методом твердофазной экстракции (ТФЭ) на картридже (Oasis HLB). Перед нанесением экстракта, картридж последовательно кондиционируют 2 см³ метанола и уравнивают 2 см³ воды. Затем пропускают через картридж полученный экстракт (при процедуре очищения вакуум или

избыточное давление не применяют). Затем промывают картридж 2 см³ деионизированной воды. Колонку сушат под вакуумом, созданным с помощью водоструйного насоса в течение 10 мин. Элюируют анализируемые соединения с помощью 3 см³ ацетонитрила в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³. Пробирку помещают в термостатируемый нагревательный модуль с системой отдувки растворителей и упаривают до 0,2 см³ в токе азота при температуре 40°C.

Полученный остаток доводят до 1 см³ раствором муравьиной кислоты с концентрацией 0,05 %. Экстракт фильтруют и с помощью пипеточного дозатора переносят в виалу для автосамплера жидкостного хроматографа. Полученный раствор используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

10.4.4 Обработка проб молока и молочных продуктов (кроме сливочного масла) для определения цефалоспоринов без цефтиофура и его метаболитов

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).

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

10 г сыра, творога или творожных изделий взвешивают на часовом стекле или в чашке Петри, результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака, навеску переносят в ступку и тщательно растирают.

Взвешивают 100 г твердого сыра, результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака, навеску измельчают на гомогенизаторе.

Взвешивают 1,0 г гомогенизированной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см³, результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака. С помощью пипеточного дозатора в пробирку вносят 0,05 см³

раствора внутренних стандартов D₂₂ (10.1.8.7). Дальнейшую обработку проб и подготовку их к хроматографированию проводят по 10.4.3.

10.4.5 Обработка проб меда и продуктов на его основе для определения цефалоспоринов без цефтиофура и его метаболитов

Подготовка проб меда и продуктов на его основе – по ГОСТ 19792 (подраздел 7.2).

Взвешивают 1,0 г перемешанной пробы в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см³, результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака. С помощью пипеточного дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ раствора внутренних стандартов D₂₂ (10.1.8.7). Приливают в пробирку 2 см³ деионизованной воды и перемешивают до полного растворения меда (разрешается применять нагревание до 40 °C).

Полученный экстракт очищают методом твердофазной экстракции (ТФЭ) на картридже (Oasis HLB) по 10.5.3.

10.4.6 Обработка проб жира, шпика, сливочного масла

Берут навеску гомогенизированного образца 0,50±0,05 г и переносят в пластиковый фалькон на 15 см³, добавляют 25 мм³ внутреннего стандарта с концентрацией 10000 нг/см³ и выдерживают в темном месте 20 мин. Добавляют 2,5 см³ ацетонитрила, перемешивают на вортексе 1 мин. Добавляют 350 мг MgSO₄ и 100 мг NaCl (4.2.12), встряхивают и помещают в ультразвуковую баню на 30 мин при 30°C. Центрифугируют в течении 10 мин при 4000 об/мин. Отбирают 1,5 см³ надосадочной жидкости в эппендорф на 2 см³ и добавляют 100 мг MgSO₄ (4.2.11) и 450 мг сорбента C₁₈ (4.2.13), 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 мм³ метанола, переносят во вставку для виалы и анализируют методом ВЭЖХ/МС-МС.

11 Выполнение измерений

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

на наличие цефалоспоринов и их метаболитов или других соединений, мешающих определению. С помощью установленных градуировочных характеристик проводят количественное определение цефалоспоринов и их метаболитов в анализируемом растворе.

12 Обработка результатов измерений

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

12.1 За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (1)

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

где X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли вещества, млрд⁻¹ (мкг/кг),

r – значение предела повторяемости, % (таблицы 2, 3, 4).

12.2 Если условие (1) 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

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

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

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

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

для $n = 4$

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

где σ_r – показатель повторяемости, % (таблицы 2, 3, 4).

12.3 Если условие (2) 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 доли аналита, признанных приемлемыми по 12.1, 12.2, млрд⁻¹ (мкг/кг);

$U_{k,c}$ – значение относительной расширенной неопределенности, % (таблицы 2, 3, 4).

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:

$$\left| X_1 - X_2 \right| \leq 0,01 R_L \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (4)$$

где X_1 и X_2 – результаты измерений массовой доли 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 таблицах 8-11.

Таблица 8 – Относительные значения показателя внутрилабораторной прецизионности и предела внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P=0,95$ в образцах мяса и иных продуктов убоя, мясной

продукции от всех видов убойных животных и птиц (за исключением субпродуктов), яиц птицы и продуктах их переработки, меде, продуктах на его основе, пищевой рыбной продукции животного происхождения из уловов водных биологических ресурсов и объектов аквакультуры

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_s} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_{Л}$, %
Цефакетрил	от 5 до 50 включ.	21	58
	св. 50 до 500 включ.	8	21
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	18	49
	от 50 до 500 включ.	8	21
Цефалоним	от 5 до 50 включ.	10	28
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефоперазон	от 5 до 50 включ.	13	37
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефкином	от 5 до 80 включ.	12	33
	от 80 до 500 включ.	8	23

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефапирин	от 5 до 80 включ.	10	28
	от 80 до 500 включ.	8	23
Дезацетил цефапирин	от 5 до 50 включ.	16	44
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефадроксил	от 5 до 50 включ.	10	28
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	17	47
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефотаксим	от 5 до 50 включ.	17	47
	от 50 до 500 включ.	8	23
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	18	49
	от 50 до 500 включ.	8	23

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	10	28
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефпиром	от 5 до 50 включ.	13	37
	от 50 до 500 включ.	8	23
Цефотиам	от 5 до 50 включ.	20	56
	от 50 до 500 включ.	13	35
Цефаклор	от 5 до 50 включ.	13	35
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефетамет	от 5 до 50 включ.	8	23
	от 50 до 500 включ.	5	14
Цефепим	от 5 до 50 включ.	12	33
	от 50 до 500 включ.	8	23

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефтиофур и метаболиты	от 30 до 300 включ.	7	19
	от 300 до 3000 включ.	5	14

Таблица 9 – Относительные значения показателя внутрилабораторной прецизионности и предела внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности P=0,95 в образцах субпродуктов от всех видов убойных животных и птиц

Определяем ый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефацетрил	от 5 до 50 включ.	21	58
	от 50 до 500 включ.	8	21

Определяемый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	18	49
	от 50 до 500 включ.	13	35
Цефалоним	от 5 до 50 включ.	8	21
	от 50 до 500 включ.	17	47
Цефоперазон	от 5 до 50 включ.	7	19
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефкином	от 5 до 50 включ.	7	19
	от 50 до 500 включ.	13	37
Цефапирин	от 5 до 50 включ.	5	14
	от 50 до 500 включ.	13	35
Дезацетил цефапирин	от 5 до 50 включ.	8	21

Определяемый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефадроксил	от 5 до 50 включ.	8	23
	от 50 до 500 включ.	17	47
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	10	28
	от 50 до 500 включ.	20	56
Цефотаксим	от 5 до 50 включ.	10	28
	от 50 до 500 включ.	22	60
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	14	40
	от 50 до 500 включ.	12	33
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	7	19
	от 50 до 500 включ.	21	58

Определяемый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефпиром	от 5 до 50 включ.	8	23
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефотиам	от 5 до 50 включ.	8	23
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефаклор	от 5 до 50 включ.	8	23
	от 50 до 500 включ.	18	51
Цефетамет	от 5 до 50 включ.	8	23
	от 50 до 500 включ.	13	37
Цефепим	от 5 до 50 включ.	7	19
	от 50 до 500 включ.	13	37
Цефтиофури и метаболиты	от 30 до 300 включ.	7	19

Определяем ый показатель	Диапазон измерения млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
	от 300 до 3000 включ.	17	47

Таблица 10 – Относительные значения показателя внутрилабораторной прецизионности и предела внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P=0,95$ в образцах молока и молочной продукции

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_x} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефакетрил	от 5 до 50 включ.	13	37
	от 50 до 500 включ.	8	23
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	19	54
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефалоним	от 5 до 50 включ.	13	37
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефоперазон	от 5 до 80 включ.	15	42
	от 80 до 500 включ.	7	19
Цефкином	от 5 до 50 включ.	20	56
	от 50 до 500 включ.	8	23

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_L} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефапирин	от 5 до 50 включ.	12	33
	от 50 до 500 включ.	8	23
Дезацетил цефапирин	от 5 до 50 включ.	17	47
	от 50 до 500 включ.	8	23
Цефадроксил	от 5 до 50 включ.	20	56
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	22	60
	от 50 до 500 включ.	13	35
Цефотаксим	от 5 до 50 включ.	12	33
	от 50 до 500 включ.	5	14
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	29	81
	от 50 до 500 включ.	10	28

Определяем ый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_L} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	13	35
	от 50 до 500 включ.	10	28
Цефпиром	от 5 до 50 включ.	10	28
	от 50 до 500 включ.	8	23
Цефотиам	от 5 до 50 включ.	20	56
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефаклор	от 5 до 50 включ.	13	37
	от 50 до 500 включ.	5	14
Цефетамет	от 5 до 50 включ.	13	37
	от 50 до 500 включ.	7	19
Цефепим	от 5 до 50 включ.	18	49
	от 50 до 500 включ.	5	14

Определяемый показатель	Диапазон измерения, млрд ⁻¹ (мкг/кг)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_d} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_d , %
Цефтиофур и метаболиты	от 30 до 300 включ.	8	23
	от 300 до 3000 включ.	7	19

Таблица 11 – Относительные значения показателя внутрилабораторной прецизионности и предела внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P=0,95$ для образцов жира, шпика и сливочного масла

Определяемый показатель	Диапазон измерения, мкг/кг	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_i} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефакетрил	от 5 до 500 включ.	9	26
Цефалексин	от 5 до 50 включ.	13	35
	св. 50 до 500 включ.	8	23
Цефалоним	от 5 до 500 включ.	12	33
Цефоперазон	от 5 до 500 включ.	10	28
Цефкином	от 5 до 500 включ.	9	26
Цефапирин	от 5 до 500 включ.	9	26
Дезацетил цефапирин	от 5 до 500 включ.	10	28
Цефадроксил	от 5 до 500 включ.	12	33

Определяемый показатель	Диапазон измерения, мкг/кг	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_L} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефсулодин	от 5 до 50 включ.	8	23
	св. 50 до 500 включ.	5	14
Цефотаксим	от 5 до 500 включ.	12	33
Цефтибутен	от 5 до 50 включ.	13	35
	св. 50 до 500 включ.	8	23
Цефподоксим	от 5 до 50 включ.	13	35
	св. 50 до 500 включ.	8	23
Цефпиром	от 5 до 500 включ.	8	21
Цефотиам	от 5 до 500 включ.	8	23
Цефаклор	от 5 до 500 включ.	9	26
Цефетамет	от 5 до 500 включ.	10	28

Определяемый показатель	Диапазон измерения, мкг/кг	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_{R_L} , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Цефепим	от 5 до 500 включ.	13	35
Цефтиофур и метаболиты	от 30 до 300 включ.	8	21
	св. 300 до 3000 включ.	6	16

При выполнении условия (4) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их среднее арифметическое значение.

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 индивидуальных веществ цефалоспоринов и их метаболитов (рабочие пробы с добавкой).

Рабочие пробы для проведения оперативного контроля выбирают таким образом, чтобы массовая доля цефалоспоринов и их метаболитов 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 индивидуальных веществ цефалоспоринов C_o , в зависимости от показателя внутрилабораторной прецизионности согласно Приложению А.

В соответствии с данной методикой в условиях повторяемости получают результаты контрольных измерений массовой доли цефалоспоринов и их метаболитов в рабочей пробе – X_n и в рабочей пробе с внесённой известной добавкой индивидуальных веществ цефалоспоринов и их метаболитов – X_{n+o} .

Результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X_{n+o} - X_n - C_o, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)} \quad (5)$$

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{U_{LX_{n+\partial}}^2 + U_{LX_n}^2}, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (6)$$

где $\pm U_{LX_{n+\partial}}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой доли индивидуального вещества цефалоспоринов и их метаболитов в пробе с добавкой, рассчитанная по формуле:

$$U_{LX_{n+\partial}} = 0,01\delta U_L X_{n+\partial}, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (7)$$

$\pm U_{LX_n}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой доли индивидуального вещества цефалоспоринов и их метаболитов в пробе, рассчитанная по формуле:

$$u_{LX_n} = 0,01\delta U_L X_n \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (8)$$

$\pm u_L$ – относительное значение характеристики погрешности результатов измерений.

Реализация решающего правила контроля.

$$|K_k| \leq K \quad (9)$$

При невыполнении этого условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (9) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительному результату, и принимают меры к их устранению.

Примечание – Если в рабочей пробе установлено отсутствие индивидуального вещества цефалоспоринов и их метаболитов на уровне нижней границы диапазона измерений, установленного методикой измерений, то эта рабочая проба с введённой добавкой индивидуального вещества цефалоспоринов и их метаболитов C_∂ может служить образцом для контроля с аттестованным значением C_∂ . В этом случае результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X - C_\partial, \text{ млрд}^{-1} \text{ (мкг/кг)}, \quad (10)$$

где X – результат контрольного измерения массовой доли индивидуального вещества цефалоспоринов и их метаболитов в образце для контроля;

C_∂ – массовая концентрация введенной добавки, млрд⁻¹ (мкг/кг).

Приложение А

(справочное)

Добавка к пробе (разбавленной пробе) и коэффициент разбавления в зависимости
от показателя внутрилабораторной прецизионности

Таблица Б.1 – Значения величины добавки к пробе (разбавленной пробе) и коэффициента разбавления в зависимости от показателя внутрилабораторной прецизионности

Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{\text{РЛ}}$, % содержания компонента в пробе	Значение величины добавки ω , % содержания компонента в пробе, не менее	Коэффициент разбавления пробы η , не менее
12	63	1,6
13	70	1,7
14	78	1,8
15	86	1,9
16	94	1,9
17	100	2,0
18	110	2,1
19	120	2,2
20	130	2,3
21	140	2,4
22	160	2,6
23	170	2,7

MY A-1/134

(обозначение документа,
регламентирующего методику измерений)

Ключевые слова:

цефалоспориновые антибиотики, продукция животноводства, мониторинг

Руководитель разработки:

Заместитель директора

(должность)

(личная подпись)

(личная подпись)

А.В. Третьяков

(инициалы, фамилия)

Исполнитель:

Старший научный
сотрудник отдела
безопасности пищевой
и кормовой продукции

(должность)



(личная подпись)

И.В. Батов

(инициалы, фамилия)

Директор института
молекулярной
тераностики²

(должность)


(личная подпись)

(личная подпись)

А.Е. Носырев

(инициалы, фамилия)

M.П.



² В части разработки: масло, шпик, жировая ткань.