

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



Методические указания

МУ А-1/140

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 тиреостатиков в
кормах, физиологических жидкостях, органах и тканях животных мето-
дом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектромет-
рическим детектированием**

Аттестована:

ФГБУ «ВГНКИ»

Регистрационный номер
в Информационном фонде по
обеспечению единства измерений

99.1.31.2024.49663

(наименование организации, осуществляющей
аттестацию методики)

г. Москва
2024

СВЕДЕНИЯ О РАЗРАБОТКЕ

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

(наименование инициатора разработки)

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

(полное наименование организации-разработчика)

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

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

(почтовый адрес организации-разработчика)

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

E-mail: vgnki@fsvps.gov.ru

Б. Тел: +7 (495) 609-14-00;

E-mail: nosyrev_a_e@staff.sechenov.ru

Руководитель организации-разработчика:

А. Антонов Евгений Вячеславович

(фамилия, имя, отчество)

Б. Носырев Александр Евгеньевич

(фамилия, имя, отчество)

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

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

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

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

Свидетельство об аттестации методики измерений: РОСС RU.0001.310354 - 0127/2024 О.П.И.
(номер свидетельства и дата его оформления)

Руководитель юридического лица,

аттестовавшего методику (метод) измерений:

Антонов Евгений Вячеславович

(фамилия, имя, отчество)

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

Регистрационный код методики измерений по Федеральному реестру

ФР.1.31.2024.49663

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

ВВЕДЕН (А) ВПЕРВЫЕ.

Содержание

1 Назначение и область применения	1
2 Требования к показателям точности измерения	1
3 Требования к средствам измерений, вспомогательному оборудованию, материалам, реактивам	3
4 Метод измерений	6
5 Требования безопасности и охрана окружающей среды	6
6 Требования к квалификации операторов	7
7 Требования к условиям измерений	7
8 Отбор и хранение проб	7
9 Подготовка к выполнению измерений	8
10 Выполнение измерений	18
11 Обработка результатов измерений	19
12 Оформление результатов измерений	23
13 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории	23
14 Нормативные ссылки	26
Приложение А	29
Приложение Б	30

1 Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает методику измерений массовой концентрации 2-тиоурацила, 6-метил-2-тиоурацила, 2-меркаптобензимидазола, 6-пропил-2-тиоурацила, 6-фенил-2-тиоурацила в кормах, физиологических жидкостях, переработанной и переработанной пищевой продукции животного происхождения: мясе, иных продуктах убоя и мясной продукции из всех видов животных (включая жир, шпик, кишечное сырье) и птиц, а также комбикормовой продукции, и устанавливает метод определения остаточного содержания указанных тиреостатиков с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС). Метод предназначен для организаций и учреждений, осуществляющих контроль безопасности продукции животноводства и кормов, а также мониторинг продукции животноводства по остаточному содержанию лекарственных средств.

2 Требования к показателям точности¹ измерений

Настоящая методика обеспечивает выполнение измерений массовой концентрации тиреостатиков с расширенной неопределенностью результатов измерений при коэффициенте охвата $k = 2$, указанной в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики методики при проведении измерений массовой концентрации 2-тиоурацила, 6-метил-2-тиоурацила, 2-меркаптобензимидазола, 6-пропил-2-тиоурацила, 6-фенил-2-тиоурацила

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

Объект	Диапазон измерения, мкг/кг	Относительное средне-квадратическое отклонение результатов, полученное в условиях просторности, U_r (σ_r), %	Относительное средне-квадратическое отклонение результатов, полученное в условиях воспроизводимости, $U_R(\sigma_R)$, %	Суммарная стандартная относительная неопределенность, U_c , %	Границы относительной неопределенности при доверительной вероятности $P=0,95$, $\pm U_p^*$, %
2-Меркаптобензимидазол					
Мясо, иные продукты убоя (включая субпродукты, жир, шпик, кишечное сырье), мясная продукция от всех видов убойных животных и птиц	От 0,4 до 8,0 включ.	20	25	10	50
	Св. 8,0 до 30 включ.	7	10	2	20
Корма и комбикормовая продукция	От 0,4 до 30 включ.	12	14	5	28
Физиологические жидкости (моча)	От 0,4 до 2,0 включ.	12	15	5	30
	Св. 2,0 до 30 включ.	8	10	3	21
6-Пропил-2-тиоурацил, 6-Метил-2-тиоурацил, 2-Тиоурацил, 6-Фенил-2-тиоурацил					
Мясо, иные продукты убоя (включая	От 2,0 до 8,0 включ.	11	14	5	28

субпродукты, жир, шпик, кишечное сырье), мясная продукция от всех видов убойных животных и птиц	Св. 8,0 до 30 включ.	5	10	3	21
Корма и комбикормовая продукция	От 2,0 до 8,0 включ.	16	18	6	36
	Св. 8,0 до 30 включ.	7	12	4	24
Физиологические жидкости (моча)	От 2,0 до 8,0 включ.	16	18	6	36
	Св. 8,0 до 30 включ.	6	11	4	22
* - соответствует характеристики погрешности при доверительной вероятности P=0,95					

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

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

3.1 Средства измерений

3.1.1 Масс-спектрометр с гибридным квадрупольным анализатором с диапазоном измерений m/z от 5 до 1200 «6500 QTRAP» (AB SCIEX, Канада, США), номер в госреестре 58075-14, и компьютером с установленным программным обеспечением Analyst 1.6.1 (AB SCIEX, Канада, США).

3.1.2 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).

3.1.3 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 Compau, Япония), номер в госреестре 25313-06).

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

3.1.5 Пробирки мерные градуированные П-2-10-14/23 по ГОСТ 1770.

3.1.6 Колбы мерные 1-50-2 по ГОСТ 1770.

3.1.7 Цилиндры мерные 1-500-2, 1-100-2, 1-50-2 по ГОСТ 1770.

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

3.1.9 Система высокоэффективной жидкостной хроматографии, состоящая из бинарного насоса со смесителем, термостата хроматографической колонки, обеспечивающего необходимую для проведения анализа температуру нагрева.

3.2 Вспомогательные устройства

3.2.1 Вials для автосамплера вместимостью 2 см³ с закручивающимися крышками и тефлоновыми прокладками 9 мм

3.2.2 Пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см³ с закручивающимися крышками

3.2.3 Бутыль стеклянная БВ-1000 по ГОСТ 34037

3.2.4 Гомогенизатор

3.2.5 Шейкер вихревого типа

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

3.2.7 Термостатируемый нагревательный модуль с системой отдувки растворителей

3.2.8 Ультразвуковая баня с рабочей частотой не менее 20 Гц и объемом не менее 1 дм³

3.2.9 Система получения деионизованной воды высокой чистоты

3.2.10 Генератор азота высокой чистоты

3.2.11 Лабораторная морозильная камера с цифровым контроллером температуры

3.2.12 Холодильник бытовой с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от 0°C до 5°C по ГОСТ 26678

3.2.13 Система упаривания растворителей Pierce Reacti-Var 3

3.2.14 Картриджи для твердофазной экстракции (ТФЭ) вместимостью 12 см³

3.2.15 Сорбент для ТФЭ силикагель с размером частиц 63-100 мкм³

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

3.2.17 Микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 и 2 см³

3.3 Материалы, реактивы

3.3.1 Метанол по ГОСТ 6995, квалификация "х.ч."

3.3.2 н-Гексан по ГОСТ 4517, квалификация "х.ч."

3.3.3 Трет-бутилметилловый эфир, квалификация "х.ч."

3.3.4 Гидрофосфат натрия дигидрат, квалификация "ч.д.а."

3.3.5 Дигидрофосфат калия, квалификация "ч.д.а."

3.3.6 Диэтиловый эфир, квалификация "х.ч."

3.3.7 Дихлорметан, квалификация "х.ч."

3.3.8 3-Йодбензилбромид, квалификация "ч.д.а."

3.3.9 6-Фенил-2-тиоурацил с содержанием основного вещества 80,0%.

3.3.10 2-Тиоурацил с содержанием основного вещества 80,0 %.

3.3.11 6-Метил-2-тиоурацил с содержанием основного вещества 80,0 %.

3.3.12 6-Пропил-2-тиоурацил с содержанием основного вещества 80,0 %.

3.3.13 2-Меркаптобензимидазол с содержанием основного вещества 80,0 %.

3.3.14 5,6-Диметил-2-тиоурацил с содержанием основного вещества 80,0 %.

3.3.15 NaCl, квалификация "х.ч."

3.3.16 Сорбент обращенно-фазный C_{18} .

3.3.17 $MgSO_4$, квалификация "х.ч."

3.3.18 ацетонитрил по ТУ 6-09-06-1092-83, квалификация "х.ч."

3.3.19 этилацетат, квалификация "х.ч."

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

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

4 Метод измерений

Измерения массовой концентрации тиреостатиков выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Детектирование тиреостатиков проводят в режиме мониторинга выбранных реакций (MRM) и ионизации электрораспылением с регистрацией отрицательных (ESI-) ионов.

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

5 Требования безопасности и охрана окружающей среды

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

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

Операции по приготовлению и использованию градуировочных растворов тиреостатиков следует проводить в вытяжном шкафу.

В случае, если при работе на хроматомасс-спектрометре используются сжатые газы, следует соблюдать "Правила промышленной безопасности при использовании

оборудования, работающего под избыточным давлением" (Приказ Ростехнадзора от 15.12.2020 № 536), ГОСТ 12.2.085.

При выполнении измерений на хроматографе и масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.2.007 и инструкцией по эксплуатации прибора.

6 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.

7 Требования к условиям измерений

При выполнении измерений и подготовке проб соблюдают следующие условия.

температура воздуха $(20,0 \pm 5,0)^{\circ}\text{C}$,

атмосферное давление от 630 до 800 мм.рт.ст.,

относительная влажность воздуха от 20% до 80%.

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

8 Отбор и хранение проб

8.1 Объем отбираемой пробы мочи должен быть не менее 40 см³

8.2. Отбор проб мяса, мясных продуктов, субпродуктов, – 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.

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

8.4. 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.

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

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

8.7. 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.

8.8. 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 минус 18°C (кроме сухих и сыпучих) до трёх месяцев, но не более срока годности.

9 Подготовка к выполнению измерений

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы.

9.1 Приготовление растворов

9.1.1 Приготовление растворов подвижной фазы для ВЭЖХ

Подвижная фаза А

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ с помощью мерного цилиндра отбирают 1000 см³ деионизованной воды.

Подвижная фаза Б

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ с помощью мерного цилиндра отбирают 1000 см³ метанола.

Раствор подвижной фазы А хранят при комнатной температуре в течение 1 месяца. Раствор подвижной фазы Б хранят при комнатной температуре в течение 6 месяцев.

9.1.2 Приготовление рабочих растворов

При приготовлении рабочих растворов тиреостатиков (C_0) и растворов их внутренних стандартов (D_0) рассчитывают навеску, эквивалентную 10,0 мг основного вещества исходя из массовой доли тиреостатика в стандартном образце.

9.1.2.1 Приготовление исходных растворов (C_0) тиреостатиков с массовой концентрацией 1000 мкг/см³

На весах взвешивают навеску каждого стандартного образца, эквивалентную 10,0 мг основного вещества стандартного образца (с учетом массовой доли тиреостатика в стандартном образце). Результат взвешивания в граммах записывают с точностью до четвертого десятичного знака, вносят навеску каждую в отдельную мерную пробирку вместимостью 10 см³. Добавляют в пробирки 10 см³ смеси воды с метанолом с объемным соотношением 1:2 (9.1.3.9), перемешивают и помещают в ультразвуковую баню.

Приготовленные растворы хранят в морозильной камере при температуре от минус 30 до минус 40 °С в течение 1 года.

9.1.2.2 Приготовление рабочего раствора (C_1) тиреостатиков с массовой концентрацией каждого вещества 2 мкг/см³

С помощью пипеточного дозатора отбирают по 0,02 см³ растворов C_0 и переносят эти объемы в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки смесью воды с метанолом с объемным соотношением 1:2 и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре от минус 30 до минус 40 °С в течение 1 года.

9.1.2.3 Приготовление рабочего раствора (C_2) тиреостатиков с массовой концентрацией каждого вещества 0,04 мкг/см³

С помощью пипеточного дозатора отбирают 0,2 см³ раствора C_1 и переносят этот объем в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки смесью воды с метанолом с объемным соотношением 1:2 и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в холодильнике при температуре 4 °С в течение 1 дня.

9.1.2.4 Приготовление исходного раствора (D_0) внутреннего стандарта тиреостатиков с массовой концентрацией 200 мкг/см³

На весах взвешивают навеску стандартного образца 5,6-диметил-2-тиоурацила, эквивалентную 10,0 мг основного вещества (с учетом массовой доли тиреостатика в стандартном образце). Результат взвешивания в граммах записывают с точностью до четвертого десятичного знака. Переносят навеску в мерную колбу вместимостью 50 см³. Добавляют в пробирки 50 см³ смеси воды с метанолом с объемным соотношением 1:2, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре от минус 30 до минус 40 °С в течение 1 года.

9.1.2.5 Приготовление рабочего раствора (D_1) внутреннего стандарта с концентрацией по каждому веществу 1 мкг/см³

С помощью пипеточного дозатора отбирают 0,05 см³ раствора D_0 и переносят в мерную пробирку вместимостью 10 см³, доводят объем раствора до метки смесью воды с метанолом с объемным соотношением 1:2 и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре от минус 30 до минус 40 °С в течение 6 месяцев.

9.1.3 Приготовление градуировочных растворов ($G_1 - G_4$) тиреостатиков

9.1.3.1 Приготовление градуировочного раствора (G_1) с концентрацией по тиреостатикам 60 нг/см³

Взвешивают 2,00 г образца (результат взвешивания записывают с точностью до второго десятичного знака) и помещают навеску в пластиковый флакон вместимостью 50 см³. С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,03 см³ раствора C_1 и 0,04 см³ раствора D_1 , встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно пункту 9.4.

Приготовленный раствор хранят в холодильнике при температуре 4°C в течение 1 дня.

9.1.3.2 Приготовление градуировочного раствора (G₂) с концентрацией по тиреостатикам 16 нг/см³

Взвешивают 2,00 г образца (результат взвешивания записывают с точностью до второго десятичного знака) и помещают навеску в пластиковый флакон вместимостью 50 см³. С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,40 см³ раствора С₂ и 0,04 см³ раствора D₁, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно пункту 9.4.

Приготовленный раствор хранят в холодильнике при температуре 4°C в течение 1 дня.

9.1.3.3 Приготовление градуировочного раствора (G₃) с концентрацией по тиреостатикам 4 нг/см³

Взвешивают 2,00 г образца (результат взвешивания записывают с точностью до второго десятичного знака) и помещают навеску в пластиковый флакон вместимостью 50 см³. С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,10 см³ раствора С₂ и 0,04 см³ раствора D₁, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно пункту 9.4.

Приготовленный раствор хранят в холодильнике при температуре 4°C в течение 1 дня.

9.1.3.4 Приготовление градуировочного раствора (G₄) с концентрацией по тиреостатикам 0,8 нг/см³

Взвешивают 2,00 г образца (результат взвешивания записывают с точностью до второго десятичного знака) и помещают навеску в пластиковый флакон вместимостью 50 см³. С помощью пипеточного дозатора к образцу добавляют 0,02 см³ раствора С₂ и 0,04 см³ раствора D₁, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту и проводят подготовку образца согласно пункту 9.4.

Приготовленный раствор хранят в холодильнике при температуре 4°C в течение 1 дня.

9.1.3.5 Приготовление раствора гидрофосфата натрия с концентрацией 0.2 моль/дм³

Взвешивают 35,6 г гидрофосфата натрия дигидрата (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака), помещают навеску в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доводят до метки деионизованной водой.

Раствор годен к использованию в течение 1 месяца.

9.1.3.6 Приготовление раствора дигидрофосфата калия с концентрацией 0,2 моль/дм³

Взвешивают 27,2 г гидрофосфата калия (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака), помещают навеску в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доводят до метки деионизованной водой.

Раствор годен к использованию в течение 1 месяца.

9.1.3.7 Приготовление фосфатного буферного раствора с pH 8

В колбе вместимостью 1000 см³ смешивают 945 мл раствора гидрофосфата натрия с концентрацией 0,2 моль/дм³ и 55 мл раствора дигидрофосфата калия с концентрацией 0,2 моль/дм³.

Раствор годен к использованию в течение 1 месяца.

9.1.3.8 Приготовление раствора 3-йодбензилбромида с концентрацией 5 мг/мл

Взвешивают 50,0 мг 3-йодбензилбромида (результат взвешивания записывают с точностью до первого десятичного знака), помещают навеску в мерную пробирку вместимостью 10 см³ и доводят до метки метанолом.

Используют свежеприготовленную смесь.

9.1.3.9 Приготовление смеси метанола и воды в объемном соотношении 2:1

В коническую колбу вместимостью 250 см³ мерным цилиндром отмеряют 100 см³ метанола и 50 см³ воды, перемешивают.

Используют свежеприготовленную смесь.

9.1.3.10 Приготовление смеси дихлорметана и гексана в объемном соотношении 1:3

В коническую колбу вместимостью 250 см³ мерным цилиндром отмеряют 50 см³ дихлорметана и 150 см³ гексана, перемешивают.

Используют свежеприготовленную смесь.

9.1.3.11 Приготовление смеси этилацетата и гексана в объемном соотношении 2:3

В коническую колбу вместимостью 250 см³ мерным цилиндром отмеряют 100 см³ этилацетата и 150 см³ гексана, перемешивают.

Используют свежеприготовленную смесь.

9.1.3.12 Приготовление смеси воды и метанола в объемном соотношении 1:4

В коническую колбу вместимостью 250 см³ мерным цилиндром отмеряют 50 см³ воды и 200 см³ метанола, перемешивают.

Используют свежеприготовленную смесь.

9.2 Подготовка прибора к измерениям

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

9.2.1 Параметры настройки жидкостного хроматографа

температура колонки 40°C,

скорость потока подвижной фазы 0,2 см³/мин,

объем вводимой пробы 20 мм³.

Разделение определяемых веществ проводят на хроматографической колонке ACE3 C₁₈ в следующих хроматографических условиях: первые 11 мин – элюирование от 75 до 85 % подвижной фазы Б, с 11 по 13 мин – элюирование в 85 % подвижной фазы Б, с 13 по 23 мин – уравнивание колонки в 85 % подвижной фазы Б.

9.2.2 Параметры настройки масс-спектрометрического детектора

Таблица 2 – Параметры в режиме MRM и в условиях электрораспыления с регистрацией отрицательных ионов

Соединение	Ион-предшественник, m/z	Ион-продукт, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия соударений, эВ	Ускоряющее напряжение на выходе из ячейки столкновений, В
2-Тиюрацил	343	126.9	-80	-28	-11
2-Тиюрацил	343	94.9	-80	-27	-11
6-Метил-2-тиоурацил	357	126.9	-80	-30	-11
6-Метил-2-тиоурацил	357	108.9	-80	-27	-11
2-Меркаптобензимидазол	365	147.9	-80	-30	-11
2-Меркаптобензимидазол	365	103.9	-80	-53	-11
6-Пропил-2-тиоурацил	385	126.9	-80	-30	-11
6-Пропил-2-тиоурацил	385	350.9	-80	-25	-11
6-Фенил-2-тиоурацил	419	170.9	-80	-30	-11
6-Фенил-2-тиоурацил	419	126.9	-80	-35	-11
5,6-Диметил-2-тиоурацил*	371	126.9	-80	-30	-11
5,6-Диметил-2-тиоурацил*	371	153.9	-80	-34	-11

*Внутренний стандарт

Напряжение на зонде (IS) –4500 В

Разрешение квадруполей Q1/Q3 единичное

9.3 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 9.1.3. Для приготовления проводят обработку согласно разделу 9.4 "чистых" проб (бланков), не содержащих тиреостатиков, к которым перед обработкой добавляют $0,04 \text{ см}^3$ раствора внутреннего стандарта D_1 (9.1.2.5) и рабочие растворы тиреостатиков (9.1.2.2 – 9.1.2.3).

В качестве внутреннего стандарта для всех определяемых соединений используется 5,6-диметил-2-тиоурацил.

Градуировочная характеристика строится заново в каждой серии испытаний с помощью программы «Analyst» в координатах «отношение площади пика определяемого соединения к площади пика внутреннего стандарта этого соединения» – «содержание определяемого соединения в градуировочном растворе к содержанию внутреннего стандарта». При построении градуировочной зависимости используют линейную функцию. Градуировочную характеристику считают приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение коэффициента корреляции каждого аналита $\geq 0,98$, а значения отклонения содержания массовой концентрации определяемых соединений рассчитанные по формуле (1) для каждой точки градуировочной характеристики не превышают 20 %:

$$\frac{|C_{\text{град.}} - C_{\text{расч.}}| \cdot 100}{C_{\text{расч.}}} \leq 20\% \quad (1)$$

где $C_{\text{град.}}$ – содержание определяемого соединения, найденное по градуировочной характеристике, мкг/кг ,

$C_{\text{расч.}}$ – содержание определяемого соединения в градуировочном растворе, мкг/кг .

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

Примеры хроматограмм градуировочного раствора G₃ с концентрациями 2-тиоурацила, 6-метил-2-тиоурацила, 2-меркаптобензимидазола, 6-пропил-2-тиоурацила, 6-фенил-2-тиоурацила 4 нг/см³ приведены в приложении 1.

9.4 Подготовка проб

9.4.1 Обработка проб

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).

Взвешивают 2,00 г образца (результат взвешивания записывают с точностью до второго десятичного знака) и помещают навеску в пластиковый флакон вместимостью 50 см³, вносят 0,04 см³ раствора D₁ и встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Приливают 8 см³ метанола и гомогенизируют пробу на погружном гомогенизаторе. Закрывают флакон крышкой и встряхивают на шейкере-вортексе 10 минут. Центрифугируют 20 минут при 4000 об/мин и температуре 4°C. Переносят экстракт в пластиковый флакон вместимостью 15 см³ и упаривают до 1 – 2 см³ на системе упаривания растворителей при температуре не выше 50 °C. Приливают 5 мл фосфатного буферного раствора с pH 8 и 100 мкл раствора 3-йодбензилбромида с концентрацией 5 мг/см³ и помещают пробу на нагревательный модуль при температуре 40 °C на 1 час.

После дериватизации пробу охлаждают до комнатной температуры. Добавлением концентрированной соляной кислоты доводят рН раствора до $2,5 \pm 0,5$, после чего добавляют 8 мл диэтилового эфира, встряхивают 10 мин на вортексе и центрифугируют 10 минут при скорости вращения 4000 об/мин и температуре 4°C. Экстракт переносят в пластиковый флакон вместимостью 15 см³ и упаривают досуха на системе упаривания растворителей при температуре не выше 40 °C. Остаток перерастворяют в 1,5 см³ смеси дихлорметана с гексаном с объемным соотношением 1:3 (9.1.3.10), помещают на 1 минуту в ультразвуковую баню, встряхивают на вортексе и очищают методом твёрдофазной экстракции по 9.4.2.

Для подготовки проб жира и шпика берут навеску гомогенизированного образца $0,5 \pm 0,05$ г и переносят в пластиковый фалькон на 15 см³, добавляют 25 мм³ внутреннего стандарта с концентрацией 10000 нг/см³ и выдерживают в темном месте 20 мин. Добавляют 0,5 см³ воды и 2 см³ ацетонитрила, перемешивают на вортексе 1 мин. Добавляют 350 мг MgSO₄ и 100 мг NaCl, встряхивают и помещают в ультразвуковую баню на 30 мин при 30°C. Центрифугируют в течении 10 мин при 17000g. Отбирают 1,5 см³ надосадочной жидкости в эппендорф на 2 см³ и добавляют 100 мг MgSO₄ и 450 мг сорбента C₁₈, встряхивают на вортексе 10 мин и центрифугируют при 19000g. Отбирают 1 см³ супернатанта в виалу и упаривают досуха в потоке воздуха при 45°C. Добавляют 100 мкл раствора 3-йодбензилбромида (1 мг/ см³) и выдерживают 1 час при 45°C. Затем добавляют 400 мкл фосфатного буферного раствора с рН 8 и выдерживают 30 минут при 45°C. Добавляют 1 мл этилацетата и экстрагируют на вортексе 3 мин. Отбирают 850 мм³ органического слоя в виалу и упаривают досуха в токе воздуха при 45°C. Реконструируют в 200 мм³ метанола, переносят во вставку для виалы и анализируют методом ВЭЖХ/МС-МС.

9.4.2 Очистка ТФЭ и перерастворение

Картридж для ТФЭ (3.2.14) заполняют 0,5 г сорбента (3.2.15) и кондиционируют его 10 см³ гексана. Далее пропускают через картридж пробу, полученную по 9.4.1. Промывают картридж 5 см³ гексана. Элюируют определяемые вещества 10 см³

смеси этилацетата с гексаном с объемным соотношением 2:3 (9.1.3.11). Упаривают элюат досуха на системе упаривания растворителей при температуре не выше 40 °С. Остаток перерастворяют в 1 см³ смеси воды с метанолом с объемным соотношением 1:4 (9.1.3.12) и помещают на 1 минуту в ультразвуковую баню, фильтруют через мембранный фильтр в вials и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

10 Выполнение измерений

При выполнении измерений в инжектор хроматографа вводят 20 мм³ анализируемого раствора. Подвижную фазу и реагенты предварительно проверяют на наличие определяемых веществ или других соединений, мешающих определению. С помощью установленных градуировочных характеристик проводят количественное определение тиреостатиков в анализируемом растворе.

Для идентификации тиреостатиков рассчитывают отношения площадей пиков ионов-продуктов в анализируемом растворе и сравнивают их с отношениями площадей пиков ионов-продуктов в градуировочных растворах, отклонения не должны превышать значений, указанных в таблице 3.

Таблица 3 – Допустимые отклонения относительных ионных интенсивностей

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

Отношение площадей пиков ионов-продуктов рассчитывают по формуле (2)

$$\frac{A1(an)}{A2(an)}, \quad (2)$$

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

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

Для каждого анализируемого образца проводят два параллельных измерения.

11 Обработка результатов измерений

Построение градуировочной характеристики и расчет концентрации тиреостатиков в исследуемых образцах выполняется системой обработки данных «Analyst» в автоматическом режиме.

11.1 За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (3)

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r, \quad (3)$$

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

r – значение предела повторяемости, % (таблица 4).

Полученные среднеарифметические значения двух результатов параллельных измерений анализируемой пробы округляют:

- в диапазоне значений от 0,1 до 1 мкг/кг включительно – до второго десятичного знака после запятой;
- в диапазоне значений от 1 до 100 мкг/кг включительно – до первого десятичного знака после запятой.

11.2 Если условие (3) 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

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

где $X_{\max}$, $X_{\min}$ – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой концентрации тиреостатиков, мкг/кг;

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

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

$$\text{Для } n = 4$$

$$CR_{0,95} = 3,6 \cdot \sigma_r, \quad (5)$$

где σ_r – показатель повторяемости, % (таблица 1).

11.3 Если условие (4) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

Таблица 4 – Относительные значения показателя внутрилабораторной прецизионности и пределов повторяемости и внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P=0,95$

Объект	Диапазон измерения, мкг/кг	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в условиях повторяемости), г, %	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднее квадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_{\text{вн}}$, %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_{\text{вн}}$, %
2-Меркаптобензимидазол				
Мясо, иные продукты убоя (включая субпродукты, жир, шпик, кишечное сырье), мясная продукция от всех видов убойных животных и птиц	От 0,4 до 8,0 включ.	55	21	58
	Св. 8,0 до 30 включ.	19	8	23
Корма и комбикормовая продукция	От 0,4 до 30 включ.	33	12	33
Физиологические жидкости (моча)	От 0,4 до 2,0 включ.	33	13	35
	Св. 2,0 до 30 включ.	22	8	23
6-Пропил-2-тиоурацил, 6-Метил-2-тиоурацил, 2-Тиоурацил, 6-Фенил-2-тиоурацил				

Объект	Диапазон измерения, мкг/кг	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в условиях повторяемости), r , %	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднее квадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), σ_R , %	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R_L , %
Мясо, иные продукты убоя (включая субпродукты, жир, шпик, кишечное сырье), мясная продукция от всех видов убойных животных и птиц	От 2,0 до 8,0 включ.	30	12	33
	Св. 8,0 до 30 включ.	14	8	23
Корма и комбикормовая продукция	От 2,0 до 8,0 включ.	44	15	42
	Св. 8,0 до 30 включ.	19	10	28
Физиологические жидкости (моча)	От 2,0 до 8,0 включ.	44	15	42
	Св. 8,0 до 30 включ.	17	9	26

12 Оформление результатов измерений

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

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

где $\bar{X}_{k,c}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений массовой концентрации тиреостатиков, признанных приемлемыми по 11.1, 11.2, мкг/кг;

$U_{k,c}$ – значение относительной расширенной неопределенности, % (таблица 1).

13 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

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

Периодичность контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

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

13.1 Контроль правильности результатов измерений

Для соблюдения требований настоящего стандарта рекомендуется в ходе анализа каждой серии проб проводить анализ образцов с установленным значением содержания i -го определяемого соединения с использованием стандартной процедуры подготовки проб (раздел 9).

Результаты измерений признают удовлетворительными при выполнении следующего неравенства

$$|\bar{X}_i - X_{ic}| \leq \bar{X}_i \cdot U_i \cdot 0,01, \quad (6)$$

где $\bar{X}_i$ – среднеарифметическое значение содержания i -го определяемого соединения в анализируемой пробе, мкг/кг;

X_{ic} – установленное значение содержания i -го определяемого соединения в анализируемом образце, мкг/кг;

U_i – значение относительной расширенной неопределенности содержания i -го определяемого соединения для соответствующего диапазона измерений, % (таблица 1).

13.2 Контроль стабильности с применением карт Шухарта

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

Применяя метод контрольных карт Шухарта, проверяют стабильность этих результатов измерений и оценивают стандартное отклонение повторяемости (стандартное отклонение промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами "время" и "оператор"). Средством контроля является специально выбранная рабочая проба (или рабочая проба с добавкой) из числа проанализированных ранее.

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

Для установления значения стандартного отклонения повторяемости одну и ту же пробу анализирует один и тот же оператор, использующий одно и то же оборудование, в одно и то же время, получая результаты X_1 и X_2 .

Для установления значения стандартного отклонения промежуточной прецизионности одну пробу, подвергавшуюся анализу во время смены (X_1), анализирует повторно другой оператор в другую смену (X_2), и результаты сравнивают.

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

$$\text{Средняя линия } d_2 \cdot \sigma_r = 1,128 \cdot \sigma_r,$$

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

где σ_r – среднееквадратическое отклонение повторяемости, %,

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

$$\text{Верхний предел действия } UCL_d = 3,686 \cdot \sigma_r,$$

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

$$\text{Верхний предел предупреждения } UCL_w = 2,834 \cdot \sigma_r,$$

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

Рассчитывают расхождения (w) и наносят на карту в течение контролируемого периода.

$$w = \frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)}.$$

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30. После этого проводят оценку

стандартного отклонения повторяемости (S_r) (стандартного отклонения промежуточной прецизионности ($S_{I(T,O)}$)) результатов по формуле

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

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

где m_k – число измерений.

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

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

14 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 12.1.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

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

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

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

ГОСТ 4814-57 Блоки мясные замороженные. Технические условия

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

ГОСТ 7269 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 13496.0-2016 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 17681-82 Мука животного происхождения. Методы испытаний

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

ГОСТ 26678-85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

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

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

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

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 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 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 сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты

Приложение А
(информационное)
Библиография

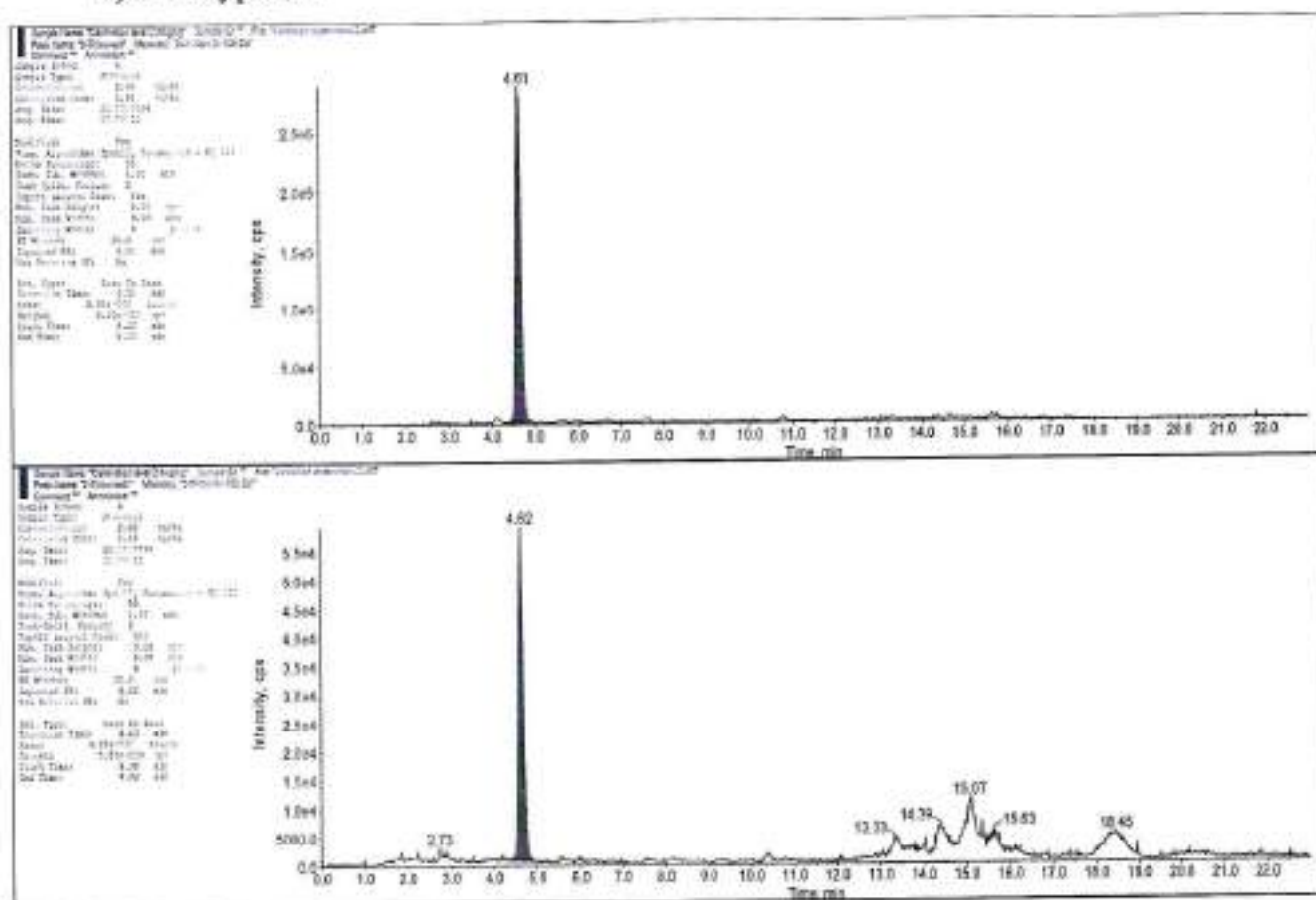
1. Analysis of thyreostats: A history of 35 years/ J.Vanden Bussche, H. Noppe, K. Verheyden, K. Wille, G. Pinel, B. Le Bizec, H.F. De Brabander// *Analytica Chimica Acta*. – 2009. – V.637. – P.2-12.
2. CRL Guidance Paper (7 December 2007), <http://www.rivm.nl/bibliotheek/digitaaldepot/crlguidance2007.pdf>.
3. Multi-residue method for the determination of thyreostats in urine samples using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry after derivatisation with 3-iodobenzylbromide/ Gaud Pinel, Emmanuelle Bichon, Karine Pouponneau, Daniel Maume, Francois Andre, Bruno Le Bizec// *Journal of Chromatography A*. – 2005. – V.1085. – P.247 – 252.
4. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals – a review/ A.A.M. Stolker, U.A. Th. Brinkman// *Journal of Chromatography A* – 2005. – V.1067. – P. 15 – 53.
5. Unambiguous identification of thiouracil residue in urine collected in non-treated bovine by tandem and high-resolution mass spectrometry/ Gaud Pinel, Daniel Maume, Yoann Deceuninck, Bruno Le Bizec// *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2006. – V.20. – P. 3183–3187.
6. Determination of thyreostats in urine and thyroid gland by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry/ Lohmus M., Kallaste K., Le Bizec B. // *Journal of Chromatography A*. – 2009. – V. 1216. – №. 46. – P. 8080-8089.

Приложение Б

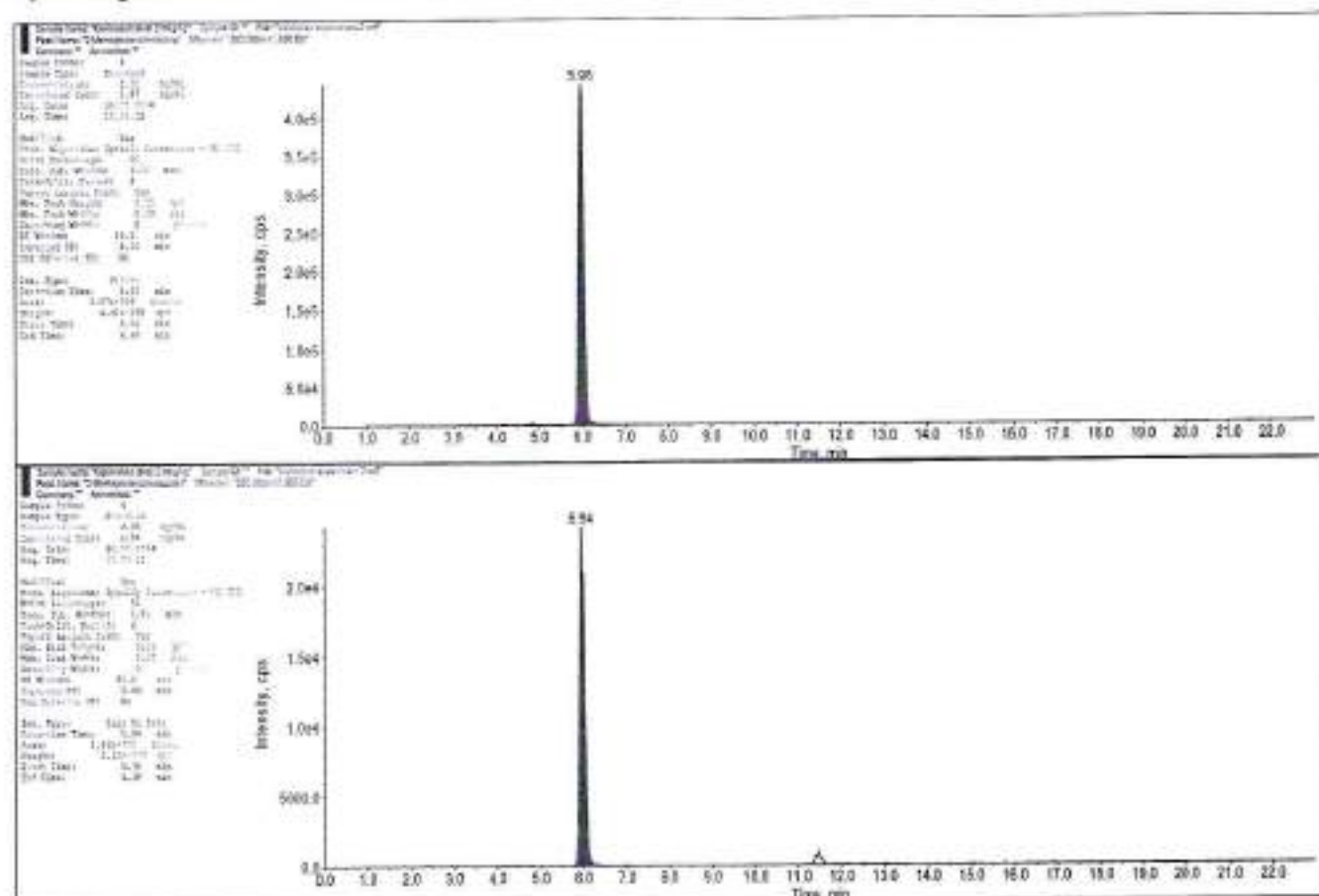
(справочное)

Примеры хроматограмм градуировочного раствора G_3 с концентрациями 2-тиоурацила, 6-метил-2-тиоурацила, 2-меркаптобензимидазола, 6-пропил-2-тиоурацила, 6-фенил-2-тиоурацила 4 нг/см³.

а) 2-тиоурацил



в) 2-меркаптобензимидазол



МУ А-1/140

(обозначение документа,
регламентирующего методику измерений)

Ключевые слова:

тиреостатики, продукция животноводства, мониторинг

Руководитель разработки:

Заместитель директора

(должность)

(личная подпись)

А.В. Третьяков

(инициалы, фамилия)

Исполнитель:

Старший научный со-
трудник отдела без-
опасности пищевой и
кормовой продукции

(должность)

(личная подпись)

И.В. Батов

(инициалы, фамилия)

Директор института
молекулярной терано-
стики²

(должность)

(личная подпись)

А.Е. Носырев

(инициалы, фамилия)



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