
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
54035—
2010

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

**Метод определения содержания
анаболических стероидов и производных
стильбена с помощью газовой хроматографии
с масс-спектрометрическим детектором**

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2011

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГУ «ВГНКИ»), Федеральным государственным учреждением «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» (ФГУ «ЦНМВЛ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. № 649-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартиформ, 2011

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Сущность метода	2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы	2
5 Условия выполнения измерений и требования безопасности	4
6 Подготовка к проведению измерений	4
7 Порядок выполнения измерений	8
8 Обработка результатов ГХ-МС анализа	11
9 Метрологические характеристики	13
10 Оформление результатов измерений	13
11 Контроль точности измерений	13
Библиография	14

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Метод определения содержания анаболических стероидов и производных стибена с помощью газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Food products, feeds, food raw materials.

Method of determination of anabolic steroids and stylben derivatives by gas chromatography with mass spectrometry detector

Дата введения — 2012—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты пищевые, корма, продовольственное сырье и устанавливает метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для идентификации и количественного определения анаболических стероидов и производных стибена.

Диапазон измерений от 0,1 до 100,0 мкг/кг.

Метод может быть использован для идентификации и количественного определения анаболических стероидов и производных стибена в физиологических жидкостях и органах животных.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

- ГОСТ Р 12.1.019—2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты
- ГОСТ Р 51447—99 (ИСО 3100-1—91) Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб
- ГОСТ Р 53228—2008 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 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности
- ГОСТ 12.2.085—2002 Сосуды, работающие под давлением. Клапаны предохранительные. Требования безопасности
- ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия
- ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
- ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия
- ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия
- ГОСТ 4166—76 Реактивы. Натрий серноокислый. Технические условия
- ГОСТ 6995—77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия
- ГОСТ 13496.0—80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб
- ГОСТ 13647—78 Реактивы. Пиридин. Технические условия
- ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначение чистоты
- ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия
- ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

П р и м е ч а н и е — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом 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 Сущность метода

Идентификацию и количественное определение анаболических стероидов и производных стибена проводят методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС) с использованием аналитических стандартов анаболических веществ с учетом критериев идентификации.

Количественное определение анаболических стероидов и производных стибена проводят методом внутреннего стандарта по площади пика идентифицированных соединений относительно градуировочной зависимости, полученной при анализе градуировочных растворов в аналогичных условиях.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

4.1 При определении содержания анаболических стероидов и производных стибена применяют следующие средства измерений и вспомогательное оборудование:

- хромато-масс-спектрометр, позволяющий проводить измерения в диапазоне масс от 45 до 650 атомных единиц массы (а.е.м.), с разрешением по шкале масс не более 1,0 а.е.м. и чувствительностью в режиме ионизации электронным ударом: при инъекции в колонку 2 пг гексахлорбензола (сканирование в диапазоне от 45 до 350 а.е.м. за 1 с) отношение сигнал/шум на молекулярном ионе с m/z 284 не менее 10/1;
- колонку кварцевую капиллярную 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм с индексом полярности неподвижной жидкой фазы от пяти до 30;
- компьютер с установленным программным обеспечением для управления хромато-масс-спектрометром и обработки результатов измерений;
- автосамплер для газового хроматографа;
- бинарный жидкостный хроматограф со спектрофотометрическим детектором;
- ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) колонка C18 250 мм × 4,6 мм × 5 мкм;
- ВЭЖХ предколонка C18 10 мм × 4,6 мм × 5 мкм;
- пипетки одноканальные переменного объема 10—100 мм³, 40—200 мм³, 200—1000 мм³, 1—5 см³ с допустимой относительной погрешностью дозирования по метанолу не более 2% (Transferpettor Brand, Германия)*;
- весы класса точности I и класса точности II с дискретностью отсчета $d=0,01$ мг, поверочным делением $e = 100 d$ по ГОСТ Р 53228;
- модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и максимальной температурой термостатирования 250 °С;
- измельчитель-гомогенизатор лабораторный;
- испаритель ротационный со скоростью вращения от 20 до 280 об/мин и температурным диапазоном нагревательной бани от 30 °С до 100 °С;
- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения ротора не менее 3500 об/с и диапазоном рабочих температур от минус 10 °С до 25 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15, 50 см³ и микроцентрифужных пробирок вместимостью 1,5 см³;
- картриджи для твердофазной экстракции объемом не менее 12 см³, заполненные обращенно-фазным сорбентом C18 с диаметром частиц не более 50 мкм;
- устройство вакуумное для твердофазной экстракции;

* Указанные материалы являются рекомендуемыми к применению. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

- флаконы стеклянные вместимостью 4 см³ с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- флаконы стеклянные вместимостью 40 см³ с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- флаконы стеклянные вместимостью 2 см³ с завинчивающимися тефлоновыми прокладками и вставками объемом 100 мм³;
- колбы мерные стеклянные 2-10-2 по ГОСТ 1770;
- колбы мерные стеклянные 2-100-2 по ГОСТ 1770;
- колбы мерные стеклянные 2-1000-2 по ГОСТ 1770;
- колбы круглодонные К-1-100-14/23 ТС по ГОСТ 25336;
- баню ультразвуковую с рабочей частотой не менее 20 кГц и объемом не менее 1 дм³;
- рН-метр с набором электродов, с пределами абсолютной погрешности измерений $\pm 0,01$ рН.

Допускается применение других средств измерений и вспомогательного оборудования с метрологическими и техническими характеристиками не ниже указанных.

4.2 При выполнении измерений применяют следующие реактивы и материалы:

- гелий газообразный марки «60»;
- фермент протеолитический Subtilisine A (Sigma, Германия, № P-5380)*;
- уксусную кислоту по ГОСТ 61, х. ч.;
- соляную кислоту по ГОСТ 3118, х. ч.;
- натрий уксуснокислый, х. ч.;
- эфир метил-трет-бутиловый для хроматографии;
- воду деионизованную;
- *N*-метил-*N*-триметилсилил-трифторацетамид (МСТФА) (Sigma, Германия, № M-7891)*;
- триметилхлорсилан (ТМИС) (Aldrich, Германия, № 19,552-9)*;
- дитиозеритритол (ДТЭ), х. ч.;
- пиридин по ГОСТ 13647;
- *N,N*-бис-триметилсилилтрифторацетамид (БСТФА) (Sigma, Германия, № T-5634)*;
- триметилхлорсилан (ТМХС) (Sigma, Германия № T-4252)*;
- пентафторпропионовый ангидрид, х. ч.;
- метоксилламин гидрохлорид ангидрид (Aldrich, Германия, № 22,690-4)*;
- *n*-Гексан, х. ч.;
- калия гидроксид по ГОСТ 24363, х. ч.;
- метанол-яд по ГОСТ 6995;
- этанол абсолютный, х. ч.;
- изооктан, х. ч.;
- кальций хлористый двухводный, х. ч.;
- ацетон по ГОСТ 2603, х. ч.;
- сорбент С18 40 мкм (Varian, США, №12213012)*;
- сок пищеварительный *Helix pomatia* (Merck, Германия, № 1.04114)*;
- натрий серноокислый по ГОСТ 4166, х. ч.;
- ацетонитрил, ч. д. а.;
- трис(гидроксиэтил)-аминометан, х. ч.

Все реактивы должны относиться к подгруппе чистоты 2 х.ч. или 3 ч.д.а. по ГОСТ 13867.

4.3 Для определения содержания анаболических стероидов и производных стиблена применяют следующие стандартные образцы:

- диэтилстильбэстрол-d6 с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT*, BRS 01)*;
- диенестрол-d2 с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, BRS 02)*;
- гексестрол-d4 с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, BRS 03)*;
- нортестостерон-d3 с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, BRS 04)*;
- метилтестостерон-d3 с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, BRS 05)*;
- 17 β -Эстрадиол-d3 с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, BRS 54)*;
- 17 β -Тестостерон-d2 с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, BRS 55)*;
- 17 α -Нортестостерон с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, BRS 56)*;
- 17 α -Тренболон с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, BRS 57)*;

* Указанные реактивы и стандартные образцы являются рекомендуемыми к применению. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

** Институт пищевой безопасности, расположенный в Нидерландах.

- 17 β -Тренболон с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, BRS 58)*;
- 17 β -Тренболон-d2 с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, BRS 59)*;
- 17 β -Тренболон-d3 с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, BRS 72)*;
- 17-Метилтестостерон с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (Acros, 225730050)*;
- 17 α -Этинилэстрадиол с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (Sigma, E-4876)*;
- β -Эстрадиол с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (Sigma, E-8875)*;
- 17 β -Тестостерон с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (Acros, 164410050)*;
- прогестерон с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (Sigma, P-0130)*;
- 19-Нортестостерон с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (Fluka, 74640)*;
- диензестрол с содержанием основного вещества не менее 98,0 % (Sigma, D-3253)*;
- гексестрол с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (Sigma, H-7753)*;
- диэтилстильбэстрола с содержанием основного вещества не менее 99,0 % (Sigma, D-4628)*;
- стандартные образцы с аттестованным содержанием анаболических веществ*:

- 1) лиофилизованная моча с аттестованным содержанием диэтилстильбэстрола (IRMM**, BCR-411);
- 2) лиофилизованное мясо с аттестованным содержанием диэтилстильбэстрола (IRMM, BCR-411);
- 3) лиофилизованная печень с аттестованным содержанием 17 α -Тренболона (IRMM, BCR-474/475).

5 Условия выполнения измерений и требования безопасности

5.1 Используемые в работе реактивы относятся к веществам 1-го и 2-го классов опасности по ГОСТ 12.1.007, при работе с ними необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

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

5.3 Операции по приготовлению и дозированию градуировочных растворов в процессе подготовки проб следует проводить под тягой в вытяжном шкафу.

5.4 При проведении испытаний следует соблюдать ГОСТ 12.2.085.

5.5 При выполнении измерений на хромато-масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ Р 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.6 К выполнению измерений методом газовой хроматографии допускаются лица, владеющие техникой ГХ-МС и изучившие инструкции по эксплуатации применяемой аппаратуры.

5.7 При определении анаболических стероидов и производных стильбена в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 20 °С до 25 °С;
- атмосферное давление от 84 до 106 кПа;
- напряжение в электросети (220 \pm 20) В;
- частота тока в электросети от 49 до 51 Гц;
- относительная влажность воздуха от 40 % до 80 %.

5.8 Хроматографические измерения проводят в условиях, указанных в инструкции по эксплуатации соответствующего прибора.

6 Подготовка к проведению измерений

6.1 Отбор проб

6.1.1 Отбор проб мяса и мясных продуктов, включая мясо и продукты из мяса птицы, проводят в соответствии с ГОСТ Р 51447.

6.1.2 Объем отбираемых образцов мочи должен быть не менее 40 см³.

Объем отбираемых образцов желчи должен быть не менее 30 см³.

Отобранные образцы мочи и желчи при отсутствии возможности исследования в день отбора замораживают при температуре минус 20 °С до проведения исследования.

* Указанные реактивы и стандартные образцы являются рекомендуемыми к применению. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

** Институт референтных материалов и измерений, расположенный в Бельгии.

6.1.3 Отбор проб кормов — по ГОСТ 13496.0.

6.2 Подготовка хромато-масс-спектрометра к выполнению измерений

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

6.3 Приготовление растворов

6.3.1 Приготовление трис-буфера молярной концентрации 0,1 моль/дм³ и pH 9,5

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ вносят 12,1 г трис(гидрохсиметил)-амино-метана и 7,3 г кальция хлористого двухводного, растворяют в 800 см³ деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до (9,5 ± 0,1) соляной кислотой молярной концентрации 1 моль/дм³ (6.3.7) и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 мес.

6.3.2 Приготовление щелочного раствора для гидролиза

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 5,6 г гидроокиси калия, растворяют в 80 см³ метанола и доводят объем до метки метанолом.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 недели.

6.3.3 Приготовление ацетатного буферного раствора молярной концентрации 0,2 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ вносят 16,4 г натрия уксуснокислого, растворяют в 900 см³ деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до (5,2 ± 0,1) концентрированной уксусной кислотой и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 мес.

6.3.4 Приготовление «кислого» буферного раствора

Для приготовления «кислого» буферного раствора смешивают 1,7 см³ соляной кислоты с 98,3 см³ ацетатного буферного раствора (6.3.3) в мерной колбе вместимостью 100 см³.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 недели.

6.3.5 Приготовление раствора для дериватизации

Для приготовления раствора МСТФА/ТМИС/ДТЭ смешивают 1000 мм³ МСТФА и 5 мм³ ТМИС во флаконе вместимостью 2 см³, добавляют к полученному раствору 2 мг ДТЭ.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 1 недели.

6.3.6 Приготовление 2 %-ного раствора метоксиламин гидрохлорида в сухом пиридине

Для приготовления раствора 0,04 г метоксиламин гидрохлорида вносят во флакон вместимостью 4 см³ и приливают 2 см³ пиридина.

Срок хранения при комнатной температуре в вытяжном шкафу — не более 1 недели.

6.3.7 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации 1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ приливают 500 см³ деионизованной воды, вносят 81 см³ концентрированной соляной кислоты и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения при комнатной температуре — не более 1 мес.

6.3.8 Приготовление растворов внутреннего стандарта

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 1 мг стандартного образца дейтерированных производных, приливают 80 см³ этанола, перемешивают и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую баню, затем доводят объем до метки этанолом. В мерную колбу вместимостью 10 см³ пипеточным дозатором вносят 0,1 см³ приготовленного раствора и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация раствора внутреннего стандарта составляет 0,1 мкг/см³.

6.3.9 Приготовление стандартного раствора C₀ анаболических стероидов и производных стильбена

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 10 мг стандартного образца, приливают 80 см³ этанола, перемешивают и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую баню, затем доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C₀ составляет 0,1 мг/см³.

Срок хранения при температуре не выше минус 18 °С — не более 12 мес.

6.3.10 Приготовление стандартного раствора C₁ анаболических стероидов и производных стильбена

В мерную колбу вместимостью 10 см³ пипеточным дозатором вносят 0,1 см³ стандартного раствора C₀ (6.3.9) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C₁ составляет 1000 нг/см³.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.3.11 Приготовление стандартного раствора C_2 анаболических стероидов и производных стильбена

В мерную колбу вместимостью 10 см³ пипеточным дозатором вносят 1 см³ стандартного раствора C_1 (6.3.10) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_2 составляет 100 нг/см³.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.3.12 Приготовление стандартного раствора C_3 анаболических стероидов и производных стильбена

В мерную колбу вместимостью 10 см³ пипеточным дозатором вносят 1 см³ стандартного раствора C_2 (6.3.11) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_3 составляет 10 нг/см³.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.3.13 Приготовление стандартного раствора C_4 анаболических стероидов и производных стильбена

В мерную колбу вместимостью 10 см³ пипеточным дозатором вносят 5 см³ стандартного раствора C_3 (6.3.12) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе C_4 составляет 5 нг/см³.

Срок хранения при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 4 мес.

6.3.14 Приготовление градуировочных растворов анаболических стероидов и производных стильбена

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрации 0,1 нг/см³ к сухому остатку после упаривания чистой пробы исследуемого типа матриц вносят 0,02 см³ стандартного раствора C_4 (6.3.13), приливают 0,1 см³ раствора каждого внутреннего стандарта (6.3.8). Затем пипеточным дозатором вносят 0,88 см³ этанола, переносят на шейкер и гомогенизируют. Затем помещают на центрифугу и центрифугируют при 15000 об/мин в течение 10 мин при температуре 10 °С.

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрации 0,5 нг/см³ используют стандартный раствор C_4 (6.3.13).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрации 1 нг/см³ используют стандартный раствор C_3 (6.3.12).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрации 10 нг/см³ используют стандартный раствор C_2 (6.3.11).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрации 100 нг/см³ используют стандартный раствор C_1 (6.3.10).

К сухому остатку после упаривания чистой пробы исследуемого типа матриц вносят 0,1 см³ соответствующего стандартного раствора, приливают 0,1 см³ раствора внутреннего стандарта (6.3.8). Затем пипеточным дозатором вносят 0,8 см³ этанола, переносят на шейкер и гомогенизируют. Затем помещают на центрифугу и центрифугируют при 15000 об/мин в течение 10 мин при температуре 10 °С.

Приготовленные градуировочные растворы и растворы внутренних стандартов хранят в морозильнике при температуре не выше минус 20 °С. Перед применением растворы выдерживают при комнатной температуре в темном месте не менее 30 мин.

6.4 Подготовка газового хроматографа к выполнению измерений

6.4.1 Подготовка газового хроматографа к работе осуществляют в соответствии с техническим руководством по эксплуатации прибора. Для получения градуировочных характеристик устанавливают параметры газового хроматографа в соответствии с 6.5.1.

6.4.2 Для получения градуировочных данных используют градуировочные растворы анаболических стероидов и производных стильбена и растворы их дейтерированных производных в соответствии с таблицей 1, внесенные в заведомо чистые образцы исследуемого типа матриц (градуировочные растворы анаболических стероидов, производных стильбена и их дейтерированные производные вносят в матрицу перед этапом дериватизации). В качестве внутреннего стандарта используют дейтерированные производные определяемых соединений. Для каждого анаболического стероида и производного стильбена используют соответствующее дейтерированное производное.

Т а б л и ц а 1 — Массовая концентрация анаболических стероидов и производных стиблена в градуировочных растворах

Наименование анаболического стероида и производного стиблена	Градуировочный уровень				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
	Массовая концентрация, нг/см ³				
Нативные анаболические стероиды и производные стиблена					
17 α -Нортестостерон	0,1	0,5	1	10	100
17 β -Нортестостерон	0,1	0,5	1	10	100
17 α -Тренболон	0,1	0,5	1	10	100
17 β -Тренболон	0,1	0,5	1	10	100
α -Эстрадиол	0,1	0,5	1	10	100
β -Эстрадиол	0,1	0,5	1	10	100
17 α -Этинилэстрадиол	0,1	0,5	1	10	100
17-Метилтестостерон	0,1	0,5	1	10	100
17 α -Тестостерон	0,1	0,5	1	10	100
17 β -Тестостерон	0,1	0,5	1	10	100
Диенэстрол	0,1	0,5	1	10	100
Гексестрол	0,1	0,5	1	10	100
Диэтилстильбэстрол	0,1	0,5	1	10	100
Прогестерон	0,1	0,5	1	10	100
Изотопно-меченые анаболические стероиды и производные стиблена/внутренний стандарт					
Нортестостерон-d3	10	10	10	10	10
17 β -Тренболон-d3	10	10	10	10	10
17 β -Эстрадиол-d3	10	10	10	10	10
17 β -Тестостерон-d2	10	10	10	10	10
Метилтестостерон-d3	10	10	10	10	10
Диенэстрол-d2	10	10	10	10	10
Гексестрол-d4	10	10	10	10	10
Диэтилстильбэстрол-d6	10	10	10	10	10

6.4.3 При установлении градуировочной характеристики следует использовать не менее трех уровней массовых концентраций градуировочных растворов в диапазоне массы определяемого аналита от 1 до 100 нг. В инжектор хроматографа вводят не менее двух раз каждый градуировочный раствор.

С помощью компьютерной системы обработки данных устанавливают градуировочную зависимость для площади пика методом внутреннего стандарта для каждого аналита по формуле

$$k_i = \frac{S_i M_{is}}{S_{is} M_i} \quad (1)$$

где k_i — коэффициент отклика для i -го аналита;

S_i — площадь пика i -го аналита в градуировочном растворе;

S_{is} — площадь пика внутреннего стандарта в градуировочном растворе;

M_i — массовая концентрация i -го аналита в градуировочном растворе, нг/см³;

M_{is} — массовая концентрация внутреннего стандарта в градуировочном растворе, нг/см³.

Проверяют приемлемость полученных значений коэффициента отклика K_i для каждого аналита анализируемых градуировочных уровней, используя неравенство

$$\frac{K_i^{\max} - K_i^{\min}}{K_i} 100 \leq d_i, \quad (2)$$

где K_i^{\max} — максимальное значение i -го коэффициента отклика;

K_i^{\min} — минимальное значение i -го коэффициента отклика;

\bar{K}_i — среднее значение i -го коэффициента отклика;

d_i — относительная разность коэффициентов отклика.

Значения d_i (при $P = 0,95$) не должны превышать: 5 % ($n = 3$) или 4 % ($n = 2$); n — число параллельных определений i -го коэффициента отклика для каждого градуировочного уровня.

6.4.4 При отсутствии дейтерированных производных анаболических стероидов и производных стибена используют метод абсолютной градуировки. Образцы для градуировки готовят по 6.4.2, за исключением введения раствора дейтерированных производных.

6.4.5 Расчеты коэффициента отклика и площади пика выполняют с помощью системы обработки данных в автоматическом режиме.

6.4.6 Градуировочную характеристику считают приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение квадрата коэффициента корреляции для каждого аналита $\geq 0,98$, а значение «Ассигасу» для каждой точки градуировочной кривой находится в диапазоне 80 %—120 %.

6.4.7 Построение новой градуировочной кривой проводят после каждого включения газового хроматографа (остановка работы для сервисного обслуживания или текущей профилактики).

6.5 Условия хроматографических измерений

6.5.1 Газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором включают в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают параметры, рекомендуемые изготовителем капиллярных колонок. Например, для кварцевой капиллярной колонки 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм применяют следующие хроматографические условия:

- газ-носитель — гелий;
- скорость потока газа носителя 1 см³/мин;
- температура инжектора 280 °С;
- инжектор в режиме без деления потока;
- температурная программа колонки:
- начальная температура 100 °С в течение 0,5 мин;
- программируемый нагрев от 100 °С до 290 °С со скоростью 8,0 °С/мин;
- изотерма при 290 °С до 40 мин;
- время анализа 40 мин;
- объем пробы от 1 до 5 мм³.

Допускается использование других хроматографических условий, обеспечивающих разделение компонентов пробы.

6.5.2 Градуировку и настройку масс-спектрометрического детектора в режиме электронной ионизации и тандемной масс-спектрометрии проводят согласно инструкции по эксплуатации прибора.

7 Порядок выполнения измерений

7.1 Обработка проб органов, тканей, мочи, желчи животных и кормов

7.1.1 100 г мышечной ткани, предварительно очищенной от грубой соединительной ткани, измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на лабораторных весах по 5,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью по 40 см³. Во флаконы добавляют 15 см³ трис-буфера (6.3.1), 5 мг протеолитического фермента и липоточным дозатором вносят по 50 мм³ раствора дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см³.

Флаконы закрывают крышкой с тефлоновой прокладкой и помещают на нагревательный модуль с магнитной мешалкой при температуре 55 °С на 3 ч. Затем флаконы с образцами охлаждают до комнатной температуры и приливают 2 см³ соляной кислоты. Гидролизат экстрагируют два раза по 15 см³ метил-трет-бутиловым эфиром, собирая эфирные фракции в отдельный флакон. При неполном отделении метил-трет-бутилового эфира флаконы с образцами помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 3 мин. Объединенные эфирные экстракты упаривают на ротационном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 4 см³ метанола, затем приливают 1 см³ деионизованной воды и

обезжиривают два раза по 3 см³ н-Гексаном. Водно-метанольную фракцию очищают методом твердофазной экстракции (ТФЭ), а затем методом ВЭЖХ.

Если интересующие компоненты представлены в виде эфиров (например, гестагены или ацетат тренболона), дополнительно проводят их щелочной гидролиз. Для этого сухой остаток растворяют в 0,2 см³ щелочного раствора для гидролиза (6.3.2) и помещают на нагревательный модуль при температуре 37 °С на 30 мин. Гидролиз останавливают добавлением 1 см³ «кислого» буферного раствора (6.3.4) и обезжиривают два раза по 3 см³ н-Гексаном.

7.1.2 Пробу печени или почек измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на лабораторных весах по 5,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью по 40 см³. Во флаконы добавляют по 15 см³ ацетатного буферного раствора (6.3.3) и 50 мм³ пищеварительного сока *Helix pomatia*. Пипеточным дозатором вносят по 50 мм³ раствора дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см³ и ставят флаконы на нагревательный модуль при температуре 37 °С на 15 ч для ферментативного гидролиза конъюгатов стероидов. После гидролиза флаконы с образцами охлаждают до комнатной температуры, добавляют 2 см³ соляной кислоты и экстрагируют два раза по 15 см³ метил-трет-бутиловым эфиром. При неполном отделении метил-трет-бутилового эфира флаконы с образцами помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 3 мин. Объединенные эфирные экстракты переносят в круглодонную колбу и упаривают на ротационном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 4 см³ метанола, затем приливают 1 см³ деионизованной воды и обезжиривают два раза по 3 см³ н-Гексаном. Водно-метанольную фракцию очищают методом ТФЭ (7.2), а затем методом ВЭЖХ (7.3).

7.1.3 Во флакон вносят 10 см³ мочи, 10 см³ ацетатного буферного раствора (6.3.3) и 100 мм³ пищеварительного сока *Helix pomatia*. Пипеточным дозатором вносят 50 мм³ раствора дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см³ и ставят флаконы на нагревательный модуль при температуре 52 °С на 15 ч для ферментативного гидролиза конъюгатов стероидов. Энзиматический гидролизат охлаждают до комнатной температуры и очищают методом ТФЭ (7.2), а затем методом ВЭЖХ (7.3).

7.1.4 Во флакон вносят 5 см³ желчи, 15 см³ ацетатного буферного раствора (6.3.3) и 100 мм³ пищеварительного сока *Helix pomatia*. Далее проводят обработку пробы в соответствии с 7.1.3.

7.1.5 5 г жира взвешивают на лабораторных весах в стеклянном флаконе вместимостью 40 см³. Во флакон добавляют 20 см³ н-Гексана и 10 см³ ацетонитрила. Пипеточным дозатором вносят 50 мм³ раствора дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см³. Помещают флакон на ультразвуковую баню на 15 мин до полного растворения жира. Затем интенсивно перемешивают, флакон с образцом помещают на центрифугу и центрифугируют при 2000 об/мин в течение 10 мин. Ацетонитрильную фракцию отбирают и повторяют жидкостно-жидкостную экстракцию 10 см³ ацетонитрила. Объединенные ацетонитрильные фракции упаривают досуха на ротационном испарителе. Сухой остаток растворяют в 1 см³ метанола, а затем приливают 1 см³ деионизованной воды и обезжиривают два раза по 3 см³ н-Гексаном. Водно-метанольную фракцию очищают методом ТФЭ (7.2), а затем методом ВЭЖХ (7.3).

7.1.6 100 г кормов измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на лабораторных весах по 5,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью по 40 см³. Во флаконы добавляют 20 см³ раствора метанола и деионизованной воды, взятых в соотношении 80:20, и пипеточным дозатором вносят по 50 мм³ раствора дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см³. Помещают флаконы на ультразвуковую баню на 20 мин. Затем интенсивно перемешивают, флаконы с образцами помещают на центрифугу и центрифугируют при 2000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочный слой обезжиривают два раза по 5 см³ н-Гексана и упаривают на ротационном испарителе при температуре 40 °С до окончания упаривания метанола. Водный остаток очищают методом ТФЭ (7.2), а затем методом ВЭЖХ (7.3).

7.2 Очистка методом твердофазной экстракции

Картриджи для ТФЭ объемом 12 см³ с 1 г сорбента С18 40 мкм кондиционируют на вакуумном устройстве для ТФЭ, пропуская последовательно 10 см³ метанола и 4 см³ деионизованной воды. К водно-метанольному экстракту, полученному после стадий экстракции в соответствии с 7.1.1—7.1.6, приливают 15 см³ деионизованной воды и пропускают через кондиционированный картридж со скоростью элюирования не более двух капель в секунду. Промывают картридж последовательно 2 см³ деионизованной воды, 10 см³ раствора метанола и деионизованной воды, взятых в соотношении 20:80, 5 см³ раствора метанола и деионизованной воды, взятых в соотношении 40:60. Элюируют аналиты 10 см³ раствора метанола и деионизованной воды, взятых в соотношении 80:20. Упаривают элюат на ротаци-

онном испарителе при температуре от 45 °С до 48 °С до 1 или 1,5 см³. Водный остаток очищают методом ВЭЖХ.

7.3 Очистка методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

7.3.1 Систему ВЭЖХ с бинарным градиентом и спектрофотометрическим детектором готовят в соответствии с руководством по эксплуатации прибора. Вместо петли инжектора устанавливают предколонку С18. Разделение анаболических стероидов и производных стиблена проводят на аналитической колонке С18 (250 мм × 4,6 мм × 5 мкм). При этом соблюдают следующие хроматографические условия:

- подвижная фаза: А — метанол 30 %, Б — вода 70 %;
- градиент до 100 % подвижной фазы А к 10 мин, с 10 до 15 мин — 100 % А, с 15 до 23 мин соотношение А/Б—30/70;
- скорость потока подвижной фазы — 1 см³/мин.

7.3.2 Порядок элюирования анаболических стероидов и производных стиблена: тренболон (7,0 мин), нортестостерон, транс-диэтилстильбэстрол, этинилэстрадиол, гексэстрол, диэнэстрол, эстрадиол, тестостерон, метилтестостерон, цисдиэтилстильбэстрол, прогестерон (11,5 мин). Времена удерживания уточняют после предварительного анализа стандартного раствора концентрации 1 мкг/см³ для каждого аналита при спектрофотометрическом детектировании 254 нм. Время отбора интересующей фракции должно быть больше на 1 мин времени удерживания последнего аналита.

7.3.3 В положении Load инжектора пропускают через предколонку 0,5 см³ деионизованной воды, а затем водный остаток пробы после ТФЭ очистки. Переводят инжектор в положение Inject и собирают фракцию, соответствующую временам удерживания анаболических стероидов и производных стиблена. Полученную фракцию анаболических стероидов и производных стиблена после ВЭЖХ упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 45 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см³ абсолютного этанола и переносят во флакон вместимостью 4 см³. Упаривают этанол досуха в токе азота на нагревательном модуле при температуре 40 °С.

7.4 Дериватизация анаболических стероидов и производных стиблена

7.4.1 Для получения триметилсилиловых производных анаболических стероидов и производных стиблена к сухому остатку после ВЭЖХ очистки пипеточным дозатором приливают 50 мм³ раствора МСТФА/ТМИС/ДТЭ (6.3.5). Помещают флаконы в нагревательный модуль на 60 мин при температуре 60 °С. Реакционную смесь переносят в стеклянные флаконы вместимостью 2 см³ с вставками на 100 мм³ и используют для ГХ-МС анализа.

7.4.2 Для получения пентафторпропионовых производных анаболических стероидов и производных стиблена к сухому остатку после ВЭЖХ очистки пипеточным дозатором приливают 200 мм³ ацетона и 50 мм³ пентафторпропионового ангидрида. Помещают флаконы в нагревательный модуль на 60 мин при температуре 60 °С. Реакционную смесь упаривают досуха в токе азота на нагревательном модуле при температуре 40 °С. Сухой остаток растворяют в 50 мм³ изоктана, переносят в стеклянные флаконы вместимостью 2 см³ с вставками на 100 мм³ и используют для анализа.

7.4.3 Данный метод дериватизации используют для получения метилоксим/триметилсилиловых (МО/ТМС) производных тренболон и других кетостероидов. При этом к сухому остатку после ВЭЖХ очистки пипеточным дозатором приливают 100 мм³ 2 %-ного раствора метоксиламин гидрохлорида в сухом пиридине (6.3.6). Полученную реакционную смесь помещают на нагревательный модуль при температуре 60 °С на 30 мин. По истечении указанного времени реакционную смесь упаривают досуха в токе азота. К сухому остатку добавляют 100 мм³ БСТФА с 1 мм³ ТМХС и помещают в нагревательный модуль при температуре 60 °С на 60 мин. Реакционную смесь упаривают досуха в токе азота на нагревательном модуле при температуре 40 °С. Сухой остаток растворяют в 50 мм³ изоктана с 5 % реакционной смеси БСТФА/ТМХС, переносят в стеклянные флаконы вместимостью 2 см³ с вставками на 100 мм³ и используют для ГХ-МС анализа.

7.5 ГХ-МС анализ

7.5.1 В инжектор хроматографа вводят от 1 до 5 мм³ пробы и проводят анализ в условиях, указанных в 6.5. При этом для каждого образца проводят не менее двух определений.

7.5.2 Времена удерживания анаболических стероидов и производных стиблена определяют при анализе градуировочных растворов. Время удерживания идентифицированных анаболических стероидов и производных стиблена в анализируемой пробе не должны отличаться от времени удерживания анаболических стероидов и производных стиблена в градуировочном растворе более чем на 2,5 %.

7.5.3 Данные о диагностических ионах дериватов анаболических стероидов и производных стиблена указаны в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 — Диагностические ионы дериватов анаболических стероидов и производных стиблена

Наименование анаболического стероида и производного стиблена	Триметилсилиловое производное	Метилосим/триметилсилиловое производное	Пентафторпропионовое производное
Тестостерон	417/432	268/358/374/389	401/417/565/580
Тестостерон d2	419/434	270/360/376/391	403/419/567/582
Нортестостерон	418	254/285/344/375	256/402/566
Нортестостерон d3	421	257/288/347/378	256/405/569
Метилтестостерон	301/341/356/446		305/319/415/430
Метилтестостерон d3	301/344/359/449		
Прогестерон	458	273/286/341/372	375/427/445/460
Диэтилстильбэстрол	217/383/397/412	217/383/397/412	291/397/531/560
Диэтилстильбэстрол d6	220/386/400/418	220/386/400/418	294/403/534/566
Диенэстрол	381/395/410	381/395/410	395/530/543/558
Диенэстрол d2	382/397/412	382/397/412	397/530/545/560
Эстрадиол	285/326/416	285/326/416	237/359/401/564
Этинилэстрадиол	285/425/440	285/425/440	381/396/409/424
Тренболон		240/266/340/371	

8 Обработка результатов ГХ-МС анализа

8.1 В соответствии с данными, полученными при анализе градуировочных растворов, оформляют таблицу пиков с использованием программного обеспечения хромато-масс-спектрометра. Метод обработки хроматограммы — внутренний стандарт. При этом используют следующую формулу:

$$X_i = \frac{S_i M_{is}}{S_{is} k_i} \quad (3)$$

где X_i — содержание i -го аналита в анализируемой пробе, мкг/кг;

S_i — площадь пика i -го аналита в анализируемой пробе;

S_{is} — площадь пика внутреннего стандарта в анализируемой пробе;

M_{is} — содержание внутреннего стандарта в анализируемой пробе, мкг/кг;

k_i — коэффициент отклика для i -го аналита.

8.1.1 Расчеты количества анаболического стероида и производного стиблена и площади пика выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

8.1.2 Результаты измерений округляют до второго десятичного знака и выражают в мкг/кг.

За окончательный результат измерений содержания i -го аналита принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

$$\frac{|X_{i1} - X_{i2}|}{X_i} 100 \leq r, \quad (4)$$

где X_{i1} и X_{i2} — результаты параллельных определений содержания i -го аналита, мкг/кг;

\bar{X}_i — среднеарифметическое X_{i1} и X_{i2} , мкг/кг;

r — предел повторяемости при $P = 0,95$; значение приведено в таблице 6, %.

8.1.3 Для целей количественного и подтверждающего анализа допускается проведение измерений в различных режимах тандемной масс-спектрометрии, позволяющих получить требуемое количество подтверждающих критериев. При количественном анализе допускается проведение измерения по одному наиболее интенсивному иону в соответствии с требованиями, установленными в 8.2. Подтверждающий анализ проводят при наличии не менее четырех диагностических критериев в соответствии с требованиями, установленными в 8.2.

8.2 Идентификацию анаболических стероидов и производных стибена и их количественное определение проводят с соблюдением следующих условий для масс-спектрометрического детектирования:

- молекулярный ион используют для идентификации, если присутствует в масс-спектре с относительной интенсивностью не менее 10 %;
- относительная ионная интенсивность каждого из диагностических ионов должна быть не менее 10 %;
- соотношение сигнал/шум для каждого диагностического иона должно быть не менее 3/1.

Относительные интенсивности детектированных ионов, выраженные как процент от интенсивности самого интенсивного иона, должны соответствовать таковым из калибровочного раствора, в сопоставимых концентрациях, измеренные при тех же самых условиях, в пределах допустимых отклонений, указанных в таблице 3.

Т а б л и ц а 3 — Максимально допустимые отклонения для относительных ионных интенсивностей

Относительная интенсивность (% от основного пика)	Электронная ионизация (ЭИ)-ГХ-МС (относительная), %	ГХ-МС ⁿ , (относительная), %
Св. 50 %	± 10	± 20
» 20 % до 50 % включ.	± 15	± 25
От 10 % » 20 % »	± 20	± 30
Менее 10 %	± 50	± 50

При проведении подтверждающего анализа число диагностических ионов для каждого из масс-спектрометрических методов определяют с учетом идентифицирующих критериев.

Для подтверждения каждого из анаболических стероидов и производных стибена необходимы минимум четыре идентифицирующих критерия. В таблице 4 установлено число идентифицирующих критериев в зависимости от используемых масс-спектрометрических методов.

Т а б л и ц а 4 — Отношение между масс-спектрометрическими методами и количеством полученных идентифицирующих критериев

Масс-спектрометрические методы	Количество идентифицирующих критериев, полученных на диагностический ион
Масс-спектрометрия низкого разрешения (НР)	1,0
НР-МС ⁿ ион предшественник	1,0
НР-МС ⁿ дочерние ионы	1,5
Масс-спектрометрия высокого разрешения (ВР)	2,0
ВР-МС ⁿ ион предшественник	2,0
ВР-МС ⁿ дочерние ионы	2,5

В таблице 5 показаны примеры числа идентифицирующих критериев (l — целое число), полученных для различных масс-спектрометрических методов.

Т а б л и ц а 5 — Примеры расчета идентифицирующих критериев

Методы ГХ-МС анализа	Число диагностических ионов	Количество идентифицирующих критериев
ГХ-МС [ЭИ или химическая ионизация (ХИ)]	N	l
ГХ-МС (ЭИ или ХИ) 2 производных	2 (Производное А) + 2 (Производное Б)	4
ГХ-МС-МС	1 предшественник и 2 дочерних	4
ГХ-МС-МС	2 предшественника, каждый с 1 дочерним	5

9 Метрологические характеристики

Значения допускаемой относительной расширенной неопределенности U_{rel} , % (при коэффициенте охвата $k = 2$), измерений содержания индивидуальных анаболических стероидов и производных стибена по установленному в настоящем стандарте методу приведены в таблице 6.

Фактические значения расширенной неопределенности U_c , мкг/кг (при коэффициенте охвата $k = 2$) результатов, полученных при определении содержания индивидуальных бета-адреностимуляторов и признанных приемлемыми (8.1.2), рассчитывают по формуле (7).

Т а б л и ц а 6 — Метрологические характеристики метода

Диапазон измерений содержаний анаболических стероидов и производных стибена, мкг/кг	Относительная расширенная неопределенность ($k = 2$) U_{rel} , %	Предел повторяемости при $P = 0,95$, $n = 2$ $r_{0,95}$, %
От 0,10 до 1,00 включ.	25	20
Св. 1,00 » 10,00 »	15	10
» 10,00	10	5

10 Оформление результатов измерений

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

$$M_c = \bar{X}_{i,c} \pm U_c \quad (5)$$

где M_c — окончательный результат определения анаболического стероида и производного стибена, мкг/кг;

$\bar{X}_{i,c}$ — среднеарифметическое двух параллельных измерений содержания i -го анализа в анализируемой пробе, выполненных в условиях повторяемости, мкг/кг;

U_c — расширенная неопределенность (при коэффициенте охвата $k = 2$) определения содержания i -го анализа, определяемая по формуле (7), мкг/кг.

11 Контроль точности измерений

11.1 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят не реже одного раза в пять дней. Заново анализируют образцы для градуировки хроматографа по 6.4 и определяют коэффициенты отклика для каждого анаболического стероида и производного стибена (два параллельных определения) в тех же условиях, в которых была установлена градуировочная характеристика. Градуировочную характеристику признают стабильной, если коэффициент отклика для каждого из двух параллельных определений отличается от значения, установленного при градуировке, не более чем на 10 %. Если градуировочная характеристика нестабильна, градуировку хроматографа проводят заново.

11.2 Контроль смещения результатов измерений с помощью стандартных образцов проводят не реже одного раза в месяц. С использованием стандартной процедуры подготовки проб проводят анализ стандартных образцов в соответствии с разделом 7 и получают результат измерений содержания i -го анализа ($\bar{X}_{i,c}$, мкг/кг). Результаты измерений признают удовлетворительными при выполнении неравенства

$$|\bar{X}_{i,c} - X_{i,a}| \leq \sqrt{U_{i,c}^2 + U_{i,a}^2} \quad (6)$$

где $\bar{X}_{i,c}$ — содержание i -го анализа в анализируемом стандартном образце, мкг/кг;

$X_{i,a}$ — аттестованное значение содержания i -го анализа в стандартном образце, мкг/кг;

$U_{i,c}$ — расширенная неопределенность (при коэффициенте охвата $k = 2$) результата измерений содержания i -го анализа, полученного при соблюдении требований настоящего стандарта, мкг/кг, рассчитывают по формуле

$$U_{i,c} = 0,15 \bar{X}_{i,c}^{0,76} \quad (7)$$

где $U_{i,a}$ — расширенная неопределенность (при коэффициенте охвата $k = 2$) аттестованного содержания i -го анализа в аттестованном стандартном образце в соответствии с паспортом (сертификатом) на конкретный стандартный образец, мкг/кг.

Библиография

- [1] ПБ 03-576—2003 Правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением (Утверждены Постановлением Гостехнадзора России от 11.06.2003 № 91)

УДК 664.002.3.001.4:006.034

ОКС 65.120
67.050

Ключевые слова: пищевые продукты, продовольственное сырье, анаболические стероиды и производные стибена, газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектором

Редактор *А.Д. Чайка*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 17.11.2011. Подписано в печать 02.12.2011. Формат 60 × 84 $\frac{1}{8}$. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,82. Тираж 196 экз. Зак. 1169.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.