

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
54032—  
2010

---

# **ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ**

**Метод определения содержания  
бета-адреностимуляторов  
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. № 646-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 Условия выполнения измерений . . . . .	2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы. . . . .	2
6 Подготовка к проведению измерений . . . . .	4
7 Отбор проб . . . . .	8
8 Порядок выполнения измерений . . . . .	10
9 Обработка результатов ГХ-МС анализа . . . . .	11
10 Метрологические характеристики . . . . .	13
11 Оформление результатов измерений . . . . .	13
12 Контроль точности измерений . . . . .	14
13 Требования безопасности . . . . .	14
Библиография. . . . .	15



## ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ, КОРМА, ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

## Метод определения содержания бета-адреностимуляторов с помощью газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Food products, feeds, food raw materials.

Method of determination of  $\beta$ -agonists by gas chromatography with mass spectrometry detector

Дата введения — 2012—01—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты пищевые в части мяса и мясных продуктов, включая мясо и продукты из мяса птицы, комбикорма и продовольственное сырье, и устанавливает метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (далее — ГХ-МС) для идентификации и количественного определения бета-адреностимуляторов.

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

Примечание — Метод может быть использован для определения содержания бета-адреностимуляторов в физиологических жидкостях, шерсти 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 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования
- 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 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия
- ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия
- ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия
- ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроксид. Технические условия
- ГОСТ 6995—77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия
- ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия
- ГОСТ 9805—84 Спирт изопропиловый. Технические условия

ГОСТ 13496.0—80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначение чистоты

ГОСТ 22300—76 Реактивы. Эфиры этиловый и бутиловый уксусной кислоты. Технические условия

ГОСТ 24147—80 Аммиак водный особой чистоты. Технические условия

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 бета-адреностимуляторов методом ГХ-МС проводят с использованием стандартных образцов бета-адреностимуляторов.

Количественное определение бета-адреностимуляторов проводят методом внутреннего стандарта по площади пика идентифицированных соединений относительно градуировочной зависимости, полученной при анализе градуировочных растворов известных соединений в аналогичных условиях.

### 4 Условия выполнения измерений

При определении содержания бета-адреностимуляторов в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . от 10 °С до 30 °С;
- атмосферное давление . . . . . от 84 до 106 кПа;
- напряжение в электросети . . . . . (220 ± 20) В;
- частота тока в электросети . . . . . от 49 до 51 Гц;
- относительная влажность воздуха . . . . . от 30 % до 80 %.

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

### 5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы

5.1 Для определения содержания бета-адреностимуляторов применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование и материалы:

- хромато-масс-спектрометр, позволяющий проводить измерения в диапазоне 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 нг 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;

- пипетки одноканальные переменного объема 10—100 мм<sup>3</sup>, 40—200 мм<sup>3</sup>, 200—1000 мм<sup>3</sup>, 1—5 см<sup>3</sup> 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;
- гомогенизатор лабораторный конфигурации ротор-статор;
- 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 плюс 25 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15, 50 см<sup>3</sup> и микроцентрифужных пробирок вместимостью 1,5 см<sup>3</sup>;
- картридж для твердофазной экстракции объемом не менее 6 см<sup>3</sup>, заполненный обращенно-фазным сорбентом С18 с размером диаметра частиц не более 50 мкм;
- устройство вакуумное для твердофазной экстракции;
- флаконы стеклянные вместимостью 4 см<sup>3</sup> с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- флаконы стеклянные вместимостью 40 см<sup>3</sup> с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;
- флаконы стеклянные вместимостью 2 см<sup>3</sup> с завинчивающимися крышками, тефлоновыми прокладками и вставками объемом 100 мм<sup>3</sup>;
- колбы мерные стеклянные 2-10-2, 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770;
- колбы стеклянные П-2-100-32 ТС по ГОСТ 25336;
- баню ультразвуковую с рабочей частотой не менее 20 кГц и объемом не менее 1 дм<sup>3</sup>;
- шейкер вихревого типа движения, с амплитудой встряхивания 5 мм;
- шейкер орбитального типа движения с максимальной скоростью вращения 1000 об/мин;
- рН-метр с набором электродов с пределами абсолютной погрешности измерений  $\pm 0,01$  ед. рН;
- фильтры мембранные с размером диаметра пор не более 0,45 мкм;
- шкаф сушильный лабораторный с автоматическим регулированием температуры в рабочем пространстве от 25 °С до 300 °С.

5.2 При выполнении измерений применяют следующие реактивы и материалы:

- гелий газообразный (сжатый) высокой чистоты, марка 6.0;
- азот газообразный особой чистоты по ГОСТ 9293;
- фермент протеолитический Subtilisine A (Sigma, Германия, № Р-5380)\*;
- кислоту уксусную по ГОСТ 61, х. ч.;
- кислоту соляную по ГОСТ 3118, х. ч.;
- кислоту хлорную 65 %-ную, х. ч.;
- кальций хлористый двухводный, х. ч.;
- аммиак водный по ГОСТ 24147, о.с.ч.;
- кислоту метилборную, х. ч.;
- *N*-метил-*N*-триметилсилил-трифторацетамид (МСТФА) (Sigma, Германия, № М-7891)\*;
- триметилхлорсилан (ТМХС) (Aldrich, Германия, № 19,552-9)\*;
- дитиозэритритол (ДТЭ), х. ч.;
- *N,N*-бис-триметилсилил-трифторацетамид (БСТФА) (Sigma, Германия, № Т-5634)\*;
- триметилхлорсилан (ТМХС) (Sigma, Германия, № Т-4252)\*;
- эфир метил-третбутиловый для хроматографии;
- *n*-Гексан х.ч.;
- калия гидроокись по ГОСТ 24363, х. ч.;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.;
- метанол-яд по ГОСТ 6995;
- этанол абсолютный, х. ч.;

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

- сок пищеварительный *Helix pomatia* (Merck, Германия, № 1.04114)\*;
- воду деионизованную;
- спирт изопропиловый по ГОСТ 9805, о.с.ч.;
- эфир этиловый уксусной кислоты по ГОСТ 22300, х.ч.;
- сорбент Bondesil C18 40 мкм (Varian, США, № 12213012)\*;
- твин 20 (Sigma, Германия, № P-2287)\*;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233, х.ч.;
- калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198;
- натрий уксуснокислый, х.ч.;
- трис(гидроксиметил)-аминометан, х.ч.

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

5.3 Для определения содержания бета-адреностимуляторов применяют следующие стандартные образцы:

- цимбутерол-d9 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT\*, Wageningen UR)\*;
  - цимбутерол массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)\*;
  - кленбутерол-d6 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)\*;
  - кленбутерол массовой долей основного вещества не менее 99,0 % (Boehringer, Ingelheim)\*;
  - сальбутамол-d6 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)\*;
  - сальбутамол массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (SIGMA, Deisenhofen)\*;
  - мапентерол массовой долей основного вещества не менее 99,0 % (RIKILT, Wageningen UR)\*;
  - мапентерол-d11 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)\*;
  - тербуталин массовой долей основного вещества не менее 99,0 % (SIGMA, Deisenhofen)\*;
  - тербуталин-d9 массовой долей основного вещества не менее 98,0 % (RIKILT, Wageningen UR)\*;
  - стандартные образцы с аттестованной массовой долей кленбутерола и сальбутамола:
- 1) лиофилизованная моча (IRMM\*\*\*, BCR-504)\*;
  - 2) лиофилизованная печень, чистый образец (IRMM, BCR-648)\*;
  - 3) лиофилизованная печень (IRMM, BCR-649)\*.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов, по качеству не хуже вышеуказанных.

## 6 Подготовка к проведению измерений

### 6.1 Приготовление растворов

#### 6.1.1 Приготовление трис-буфера молярной концентрации $c = 0,2$ моль/дм<sup>3</sup> и pH 8,0

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 24,2 г трис(гидроксиметил)-аминометана и 14,7 г кальция хлористого двухводного, растворяют в 800 см<sup>3</sup> деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до  $(8,0 \pm 0,1)$  соляной кислотой молярной концентрации  $c = 1$  моль/дм<sup>3</sup> (5.2) и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

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

#### 6.1.2 Приготовление фосфатного буферного раствора молярной концентрации $c = 0,1$ моль/дм<sup>3</sup> и pH 5,0

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 13,6 г калия фосфорнокислого однозамещенного, растворяют в 900 см<sup>3</sup> деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до  $(5,0 \pm 0,1)$  соляной кислотой молярной концентрации  $c = 1$  моль/дм<sup>3</sup> (5.2) и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °C до 4 °C — не более 3 мес.

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

\*\* Институт пищевой безопасности, расположенный в Нидерландах.

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



### 6.1.3 Приготовление фосфатного буферного раствора молярной концентрации $c = 0,1$ моль/дм<sup>3</sup> и pH 6,0

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 13,6 г калия фосфорнокислого однозамещенного, растворяют в 900 см<sup>3</sup> деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до  $(6,0 \pm 0,1)$  соляной кислотой молярной концентрации  $c = 1$  моль/дм<sup>3</sup> (5.2) и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при температуре от 2 °С до 4 °С — не более 3 мес.

### 6.1.4 Приготовление ацетатного буферного раствора молярной концентрации $c = 0,2$ моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 16,4 г натрия уксуснокислого, растворяют в 900 см<sup>3</sup> деионизованной воды, измеряют pH, доводят значение pH до  $(5,0 \pm 0,1)$  концентрированной уксусной кислотой и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

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

### 6.1.5 Приготовление растворов для дериватизации

Для приготовления раствора МСТФА/ТМИС/ДТЭ смешивают 1000 мм<sup>3</sup> МСТФА и 5 мм<sup>3</sup> ТМИС во флаконе вместимостью 2 см<sup>3</sup>, добавляя к полученному раствору 2 мг ДТЭ.

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

Для приготовления раствора БСТФА/ТМХС смешивают 1000 мм<sup>3</sup> БСТФА и 10 мм<sup>3</sup> ТМХС во флаконе вместимостью 2 см<sup>3</sup>.

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

### 6.1.6 Приготовление раствора аммиака в изопропиловом спирте

Во флакон вместимостью 40 см<sup>3</sup> вносят 15 см<sup>3</sup> изопропилового спирта, приливают 0,45 см<sup>3</sup> аммиака и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую баню.

Раствор используют свежеприготовленным.

### 6.1.7 Приготовление раствора этилового эфира уксусной кислоты и метилборной кислоты

Для приготовления раствора смешивают 0,02 см<sup>3</sup> метилборной кислоты и 10 см<sup>3</sup> этилового эфира уксусной кислоты в мерной колбе вместимостью 10 см<sup>3</sup>.

Раствор используют свежеприготовленным.

### 6.1.8 Приготовление раствора гидроокиси калия молярной концентрации $c = 1$ моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 56,1 г гидроокиси калия, растворяют в 900 см<sup>3</sup> деионизованной воды и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

### 6.1.9 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации $c = 10$ моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 400,0 г гидроокиси натрия, растворяют в 600 см<sup>3</sup> деионизованной воды и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

### 6.1.10 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации $c = 2$ моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 84,0 г натрия гидроокиси, растворяют в деионизованной воде и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре в сосуде из полимерных материалов — не более 1 мес.

### 6.1.11 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации $c = 0,01$ моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> приливают 50 см<sup>3</sup> деионизованной воды, 0,1 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

### 6.1.12 Приготовление 25 %-ного раствора соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> приливают 44 см<sup>3</sup> деионизованной воды, затем осторожно вносят 56 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

### 6.1.13 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации $c = 1$ моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> приливают 500 см<sup>3</sup> деионизованной воды, вносят 81 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и доводят объем до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес.

### 6.1.14 Приготовление растворов внутреннего стандарта массовой концентрации $c = 0,1$ мкг/см<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 1 мг стандартного образца дейтерированных производных, приливают 80 см<sup>3</sup> этанола, перемешивают и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую

баню, затем доводят объем до метки этанолом. В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> пипеточным дозатором вносят 0,1 см<sup>3</sup> приготовленного раствора и доводят объем до метки этанолом.

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

#### **6.1.15 Приготовление стандартного раствора С<sub>0</sub> бета-адреностимуляторов**

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 10 мг каждого стандартного образца, приливают 80 см<sup>3</sup> этанола, перемешивают и помещают раствор на 1 мин на ультразвуковую баню, затем доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе С<sub>0</sub> должна составлять 0,1 мг/см<sup>3</sup>.

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

#### **6.1.16 Приготовление стандартного раствора С<sub>1</sub> бета-адреностимуляторов**

В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> пипеточным дозатором вносят 0,1 см<sup>3</sup> стандартного раствора С<sub>0</sub> (6.1.15) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе С<sub>1</sub> должна составлять 1000 нг/см<sup>3</sup>.

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

#### **6.1.18 Приготовление стандартного раствора С<sub>2</sub> бета-адреностимуляторов**

В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> пипеточным дозатором вносят 1 см<sup>3</sup> стандартного раствора С<sub>1</sub> (6.1.16) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе С<sub>2</sub> должна составлять 100 нг/см<sup>3</sup>.

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

#### **6.1.19 Приготовление стандартного раствора С<sub>3</sub> бета-адреностимуляторов**

В мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> пипеточным дозатором вносят 1 см<sup>3</sup> стандартного раствора С<sub>2</sub> (6.1.17) и доводят объем до метки этанолом.

Массовая концентрация каждого соединения в растворе С<sub>3</sub> должна составлять 10 нг/см<sup>3</sup>.

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

#### **6.1.20 Приготовление градуировочных растворов бета-адреностимуляторов**

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 0,1 нг/см<sup>3</sup> к сухому остатку после упаривания матрицы вносят 0,02 см<sup>3</sup> стандартного раствора С<sub>4</sub> (6.1.19), приливают 0,1 см<sup>3</sup> раствора внутреннего стандарта (6.1.14). Затем пипеточным дозатором вносят 0,88 см<sup>3</sup> 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 концентрацией 0,5 нг/см<sup>3</sup> используют стандартный раствор С<sub>4</sub> (6.1.19).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 1 нг/см<sup>3</sup> используют стандартный раствор С<sub>3</sub> (6.1.18).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 10 нг/см<sup>3</sup> используют стандартный раствор С<sub>2</sub> (6.1.17).

Для приготовления градуировочного раствора массовой концентрацией 100 нг/см<sup>3</sup> используют стандартный раствор С<sub>1</sub> (6.1.16).

К сухому остатку после упаривания чистой пробы исследуемого типа матриц вносят 0,1 см<sup>3</sup> соответствующего стандартного раствора, приливают 0,1 см<sup>3</sup> раствора внутреннего стандарта (6.1.14).

Затем пипеточным дозатором вносят 0,8 см<sup>3</sup> 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.

### **6.2 Подготовка хромато-масс-спектрометра к выполнению измерений**

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

### **6.3 Подготовка газового хроматографа к выполнению измерений**

6.3.1 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 6.4.1.

6.3.2 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 6.4.1.

6.3.3 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 6.4.1.

6.3.4 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 6.4.1.

6.3.2 Для получения градуировочных данных используют градуировочные растворы бета-адреностимуляторов и растворы их дейтерированных производных в соответствии с таблицей 1, внесенные в заведомо чистые пробы анализируемого типа матриц (растворы бета-адреностимуляторов и их дейтерированные производные вносят в матрицу перед этапом дериватизации). В качестве внутреннего стандарта используют дейтерированные производные определяемых бета-адреностимуляторов. Для каждого бета-адреностимулятора используется соответствующее дейтерированное производное.

Т а б л и ц а 1 — Массовая концентрация бета-адреностимуляторов в градуировочных растворах

Наименование бета-адреностимулятора	Градуировочный уровень				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
	Массовая концентрация, нг/см <sup>3</sup>				
Нативные бета-адреностимуляторы					
Кленбутерол	0,1	0,5	1	10	100
Сальбутамол	0,1	0,5	1	10	100
Малентерол	0,1	0,5	1	10	100
Цимбутерол	0,1	0,5	1	10	100
Тербуталин	0,1	0,5	1	10	100
Изотопно-меченые бета-адреностимуляторы/внутренний стандарт					
Кленбутерол-d6	10	10	10	10	10
Сальбутамол-d6	10	10	10	10	10
Малентерол-d11	10	10	10	10	10
Цимбутерол-d9	10	10	10	10	10
Тербуталин-d9	10	10	10	10	10

6.3.3 При установлении градуировочной характеристики используют не менее трех уровней массовой концентрации градуировочных растворов в диапазоне определяемого бета-адреностимулятора массовой концентрации от 1 до 100 нг/см<sup>3</sup>. В инжектор хроматографа вводят каждый градуировочный раствор не менее двух раз.

С помощью компьютерной системы обработки данных устанавливают градуировочную характеристику для площади пика методом внутреннего стандарта для каждого бета-адреностимулятора.

Коэффициент отклика  $K_i$  для  $i$ -го бета-адреностимулятора рассчитывают по формуле

$$K_i = \frac{S_i M_{\text{вн}}}{S_{\text{вн}} M_i} \quad (1)$$

где  $S_i$  — площадь пика  $i$ -го бета-адреностимулятора в градуировочном растворе;

$M_{\text{вн}}$  — массовая концентрация внутреннего стандарта в градуировочном растворе, нг/см<sup>3</sup>;

$S_{\text{вн}}$  — площадь пика внутреннего стандарта в градуировочном растворе;

$M_i$  — массовая концентрация  $i$ -го бета-адреностимулятора в градуировочном растворе, нг/см<sup>3</sup>.

Проверяют приемлемость полученных значений коэффициента отклика  $K_i$  для каждого бета-адреностимулятора анализируемых градуировочных уровней, используя неравенство

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

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

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

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

$d_i$  — относительная разность коэффициентов отклика.

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

6.3.4 При отсутствии дейтерированных производных бета-адреностимуляторов используют метод абсолютной градуировки. Градуировочные растворы бета-адреностимуляторов (не менее трех уровней массовой концентрации от 1 до 100 нг/см<sup>3</sup> на пробу) вносят в заведомо чистые матрицы на стадии внесения внутреннего стандарта так же, как для метода с дейтерированными производными. Каждый градуировочный уровень анализируют не менее двух раз.

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

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

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

## 6.4 Условия хроматографических измерений

6.4.1 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 0,8 см<sup>3</sup>/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 200 °С со скоростью 25,0 °С/мин;  
программируемый нагрев от 200 °С до 225 °С со скоростью 4,0 °С/мин;  
программируемый нагрев от 225 °С до 270 °С со скоростью 20,0 °С/мин;
- изотерма при температуре 270 °С до 20 мин;
- время анализа 20 мин;
- объем пробы от 1 до 5 мм<sup>3</sup>.

Допускается использование других хроматографических условий, обеспечивающих разделение компонентов пробы.

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

## 7 Отбор проб

### 7.1 Отбор проб

7.1.1 Отбор проб мяса и мясных продуктов, включая мясо и продукты из мяса птицы, — по ГОСТ Р 51447.

7.1.2 Объем отбираемых проб мочи должен быть не менее 40 см<sup>3</sup>.

Объем отбираемых проб желчи должен быть не менее 30 см<sup>3</sup>.

Масса отбираемых проб пигментированной шерсти, не менее 10 г.

Отобранные пробы мочи и желчи при отсутствии возможности испытания в день отбора замораживают при температуре минус 20 °С.

7.1.3 Отбор проб комбикормов — по ГОСТ 13496.0.

### 7.2 Подготовка проб

#### 7.2.1 Обработка проб органов, тканей, мочи, желчи, шерсти животных и кормов

7.2.1.1 100 г мышечной ткани, предварительно очищенной от грубой соединительной ткани, измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах по 10,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью по 40 см<sup>3</sup>. Во флаконы добавляют 20 см<sup>3</sup> трис-буфера (6.1.1), 10 мг протеолитического фермента и пипеточным дозатором вносят по 50 мм<sup>3</sup> раствора дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см<sup>3</sup>.

Флаконы закрывают крышкой с тефлоновой прокладкой и помещают на нагревательный модуль с магнитной мешалкой при температуре 55 °С на 3 ч. Затем флаконы с полученным гидролизатом охлаждают до комнатной температуры, измеряют pH и, при необходимости, доводят значение pH до 5,0 хлор-



ной кислотой. Флаконы с пробями помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 20 мин при температуре 4 °С. Полученный супернатант переносят в стеклянные флаконы вместимостью по 40 см<sup>3</sup>. Осадок повторно экстрагируют 5 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора (6.1.2). Полученные гидролизаты объединяют, измеряют рН и, при необходимости, доводят значение рН до 6,0 хлорной кислотой, помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 20 мин, фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.2 Пробу печени или почек измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах по 10,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью 40 см<sup>3</sup>. Во флаконы добавляют по 20 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора (6.1.2), измеряют рН и, при необходимости, доводят значение рН до 5,0 раствором гидроксида калия (6.1.8) молярной концентрации  $c = 1$  моль/дм<sup>3</sup> или 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Пипеточным дозатором вносят по 50 мм<sup>3</sup> смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см<sup>3</sup> и ставят флаконы на ультразвуковую баню на 20 мин при температуре 40 °С. Затем пробы переносят на шейкер, гомогенизируют 30 сек и охлаждают до комнатной температуры. Флаконы с пробями помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Затем во флаконы приливают 5 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора (6.1.2), экстрагируют 30 с на шейкере и центрифугируют. Экстракты объединяют, измеряют рН и, при необходимости, доводят значение рН до 5,0 раствором гидроксида калия молярной концентрации  $c = 1$  моль/дм<sup>3</sup> (6.1.8) или 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Пипеточным дозатором в экстракты вносят по 50 мм<sup>3</sup> пищеварительного сока *Helix pomatia*, помещают на нагревательный модуль с магнитной мешалкой при температуре 40 °С на 15 ч. После гидролиза пробу охлаждают до комнатной температуры, измеряют рН и, при необходимости, доводят значение рН до 6,0 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Гидролизат центрифугируют и фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.3 Во флакон вносят 10 см<sup>3</sup> мочи, 10 см<sup>3</sup> ацетатного буферного раствора (6.1.4), 50 мм<sup>3</sup> пищеварительного сока *Helix pomatia*, измеряют рН и, при необходимости, доводят значение рН до 5,0 раствором гидроксида калия молярной концентрации  $c = 1$  моль/дм<sup>3</sup> (7.2.8) или 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12). Пипеточным дозатором вносят по 50 мм<sup>3</sup> смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см<sup>3</sup> и ставят флаконы на нагревательный модуль при температуре 40 °С на 15 ч для ферментативного гидролиза конъюгатов. Гидролизат охлаждают до комнатной температуры, измеряют рН и, при необходимости, доводят значение рН до 6,0 25 %-ным водным раствором соляной кислоты (6.1.12), фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.4 Во флакон вносят 5 см<sup>3</sup> желчи, 15 см<sup>3</sup> ацетатного буферного раствора (6.1.4), 100 мм<sup>3</sup> пищеварительного сока *Helix pomatia*. Далее проводят обработку пробы в соответствии с 7.2.3.

7.2.1.5 Сетчатку отделяют от глазного яблока, помещают во флакон вместимостью 40 см<sup>3</sup> и взвешивают на весах. На каждые 50 мг сетчатки добавляют 1 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора (6.1.2). Затем гомогенизируют 30 с на гомогенизаторе конфигурации ротор-статор. Во флаконы вместимостью 40 см<sup>3</sup> вносят по 1 см<sup>3</sup> гомогенизированной пробы и добавляют по 9 см<sup>3</sup> ацетатного буферного раствора (6.1.4). Пипеточным дозатором вносят 50 мм<sup>3</sup> пищеварительного сока *Helix pomatia* и по 50 мм<sup>3</sup> смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации  $c = 10$  нг/см<sup>3</sup>. Закрывают флаконы крышкой с тефлоновой прокладкой и помещают на нагревательный модуль с магнитной мешалкой на 15 ч при температуре 40 °С. Полученный гидролизат охлаждают до комнатной температуры, измеряют рН и, при необходимости, доводят значение рН до 6,0 раствором гидроксида натрия молярной концентрации  $c = 10$  моль/дм<sup>3</sup> (6.1.9). Флаконы с пробями помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Гидролизат фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.6 100 г кормов измельчают на гомогенизаторе и взвешивают на весах по 10,0 г гомогенизированной пробы в двух флаконах вместимостью 40 см<sup>3</sup>. Во флаконы добавляют 25 см<sup>3</sup> соляной кислоты молярной концентрацией  $c = 0,01$  моль/дм<sup>3</sup> (6.1.11). Пипеточным дозатором вносят по 50 мм<sup>3</sup> смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации 10 нг/см<sup>3</sup>. Флаконы помещают в шейкер на 30 мин, а затем центрифугируют. Надосадочный слой переносят во флакон вместимостью 40 см<sup>3</sup>, добавляют 5 см<sup>3</sup> *n*-Гексана, экстрагируют два раза по 2 мин, отбрасывая гексановые фракции. Измеряют рН водного остатка и, при необходимости, доводят значение рН до 6,0 раствором гидроксида натрия молярной концентрации  $c = 10$  моль/дм<sup>3</sup> (6.1.9), помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Экстракт фильтруют через мембранный фильтр.

7.2.1.7 10 г пигментированной шерсти промывают 0,2 %-ным водным раствором твин 20 и деионизованной водой, высушивают в сушильном шкафу при температуре 40 °С и измельчают ножницами на отрезки размером от 1 до 2 мм. Измельченную шерсть взвешивают на весах и по 1,0 г помещают в два флакона вместимостью 40 см<sup>3</sup>. Во флаконы добавляют по 20 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия молярной

концентрации  $c = 2$  моль/дм<sup>3</sup> (6.1.10). Затем во флаконы вносят пипеточным дозатором по 50 мм<sup>3</sup> смеси дейтерированных стандартных образцов массовой концентрации  $c = 10$  нг/см<sup>3</sup>.

Флаконы ставят на нагревательный модуль с магнитной мешалкой на 1 ч при температуре 85 °С. Затем охлаждают до комнатной температуры, добавляют 10 см<sup>3</sup> метил-третбутилового эфира, экстрагируют два раза по 5 мин, собирая эфирную фракцию в выпарительную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>. Для полного отделения метил-третбутилового эфира флаконы помещают на центрифугу и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин. Затем во флаконы вносят по 5 г натрия хлористого, перемешивают и повторно экстрагируют дважды по 5 мин с 10 см<sup>3</sup> смеси этилового эфира уксусной кислоты и изопропилового спирта в соотношении 60:40. Объединенные экстракты упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. К сухому остатку приливают 10 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора (6.1.3) и помещают на 1 мин на ультразвуковую баню. Экстракт фильтруют через мембранный фильтр.

### 7.3 Очистка подготовленных проб методом твердофазной экстракции (ТФЭ)

Картриджи для твердофазной экстракции вместимостью 6 см<sup>3</sup> с 0,5 г сорбента С18 40 мкм кондиционируют на вакуумном устройстве для ТФЭ, пропуская последовательно: 4 см<sup>3</sup> метанола, 1 см<sup>3</sup> деионизованной воды, 3 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора молярной концентрации  $c = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup> (6.1.3). Пропускают через картридж пробу, полученную в соответствии с 7.2.1.1—7.2.1.7, в фосфатном буфере (на всех этапах ТФЭ, кроме этапов сушки, вакуум не применяют). Промывают картридж последовательно два раза фосфатным буферным раствором по 2 см<sup>3</sup>, раствором уксусной кислоты молярной концентрации  $c = 1$  моль/дм<sup>3</sup> — 1 см<sup>3</sup> и затем сушат картридж в вакууме 20 мин. Далее промывают картридж 2 см<sup>3</sup> метанола и снова сушат в вакууме 10 мин. Элюируют аналиты раствором аммиака в изопропиловом спирте (6.1.6). Упаривают элюат на ротационном испарителе при температуре не выше 45 °С. Остаток переносит в 1 см<sup>3</sup> абсолютного этанола и переносит во флакон вместимостью 4 см<sup>3</sup>. Упаривают этанол досуха в токе азота на нагревательном модуле при температуре от 35 °С до 40 °С не менее 1 ч.

Каждую новую партию сорбента необходимо тестировать по описанной процедуре ТФЭ. При тестировании используют стандартные растворы бета-адреностимуляторов известной молярной концентрации в фосфатном буферном растворе (6.1.3). Модифицируют только два этапа: объем метанола на стадии промывки сорбента (критично для анилиновых бета-адреностимуляторов) и объем элюирующего раствора на последней стадии (критично для бета-адреностимуляторов фенольного типа).

## 8 Порядок выполнения измерений

### 8.1 Дериватизация бета-адреностимуляторов

8.1.1 Для получения триметилсилиловых производных бета-адреностимуляторов к сухому остатку после ТФЭ очистки по 7.3 пипеточным дозатором приливают 50 мм<sup>3</sup> смеси МСТФА/ТМИС/ДТЭ (6.1.5). Помещают флаконы в нагревательный модуль на 60 мин при температуре 60 °С. По истечении указанного времени реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, переносят в стеклянные флаконы вместимостью 2 см<sup>3</sup> с вставками на 100 мм<sup>3</sup> и используют для ГХ-МС анализа.

8.1.2 Для двухстадийной дериватизации к сухому остатку после ТФЭ очистки, пипеточным дозатором приливают 50 мм<sup>3</sup> раствора метилборной кислоты в этиловом эфире уксусной кислоты (6.1.7). Полученную реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре 20 мин. По истечении указанного времени от 1 мм<sup>3</sup> до 2 мм<sup>3</sup> реакционной смеси вводят в хромато-масс-спектрометр. Получают хроматограмму циклических метилборатов.

Затем реакционную смесь упаривают досуха и к сухому остатку добавляют 50 мм<sup>3</sup> раствора БСТФА/ТМХС (6.1.5). Полученную реакционную смесь помещают в нагревательный модуль при температуре 60 °С на 30 мин. По истечении указанного времени реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, переносят в стеклянные флаконы вместимостью 2 см<sup>3</sup> с вставками на 100 мм<sup>3</sup> и используют для ГХ-МС анализа.

### 8.2 ГХ-МС анализ

8.2.1 В инжектор хроматографа вводят по 1—5 мм<sup>3</sup> анализируемой пробы и проводят анализ в условиях, указанных в 6.4. Проводят не менее двух определений для каждой анализируемой пробы.

8.2.2 Время удерживания бета-адреностимуляторов определяют при анализе градуировочных растворов. Время удерживания идентифицированных бета-адреностимуляторов в анализируемой пробе не должно отличаться от времени удерживания бета-адреностимуляторов в градуировочном растворе более чем на 2,5 %.

8.2.3 Данные о диагностических ионах триметилсилиловых производных бета-адреностимуляторов приведены в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 — Диагностические ионы триметилсилиловых производных бета-адреностимуляторов

Наименование бета-адреностимулятора	$N$	$M_o$	$M_d$	Диагностические ионы
Кленбутерол	1	276	348	86/262/243/333
Кленбутерол-d6	1	282	354	92/262/246/339
Кленбутерол	2	276	420	86/300/335/405
Кленбутерол-d6	2	282	426	92/300/335/411
Сальбутамол	3	239	455	86/294/369/440
Сальбутамол-d6	3	245	461	92/295/369/446
Тербуталин	3	225	442	86/356/371/426
Малентерол	1	324	396	100/277/291/296
Малентерол	2	324	468	100/364/369/453
Цимбутерол	1	233	305	86/200/219/234
Цимбутерол-d9	1	242	314	95/206/219/234
Цимбутерол	2	233	377	86/272/291/362
Цимбутерол-d9	2	242	386	95/278/291/371
П р и м е ч а н и е — В таблице использованы следующие условные обозначения: $N$ — число ТМС групп в молекуле производного; $M_o$ — молекулярная масса; $M_d$ — молекулярная масса ТМС производного.				

8.2.4 Данные о диагностических ионах метилборатов бета-адреностимуляторов приведены в таблице 3.

Т а б л и ц а 3 — Диагностические ионы метилборатов бета-адреностимуляторов

Наименование бета-адреностимулятора	$N$	$M_o$	$M_d$	Диагностические ионы
Кленбутерол	1	276	300	243/245/285/287
Кленбутерол-d6	1	282	306	246/248/288/290
Сальбутамол	2	239	287	229/230/271/272
Сальбутамол-d6	2	245	293	232/233/274/275
Малентерол	1	324	348	277/279/291/319
Цимбутерол	1	233	257	158/200/241/242
Цимбутерол-d9	1	242	266	159/206/247/248
П р и м е ч а н и е — В таблице использованы следующие условные обозначения: $N$ — число МБ-групп в молекуле производного; $M_o$ — молекулярная масса; $M_d$ — молекулярная масса производного.				

## 9 Обработка результатов ГХ-МС анализа

9.1 В соответствии с данными, полученными при анализе градуировочных растворов, оформляют таблицу пиков с использованием программного обеспечения хромато-масс-спектрометра. Метод обработки хроматограммы — внутренний стандарт.

Содержание  $i$ -го бета-адреностимулятора в анализируемой пробе  $X_i$ , мкг/кг, рассчитывают по формуле

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

где  $S_i$  — площадь пика  $i$ -го бета-адреностимулятора в анализируемой пробе;

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

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

$k_i$  — коэффициент отклика для  $i$ -го бета-адреностимулятора.

9.1.1 Расчеты количества бета-адреностимулятора и площади пика выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме.

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

За результат измерений содержания  $i$ -го бета-адреностимулятора принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

$$\frac{|X_{i1} - X_{i2}|}{\bar{X}_i} \times 100 \leq r, \quad (4)$$

где  $X_{i1}$  и  $X_{i2}$  — результаты двух параллельных определений содержания  $i$ -го бета-адреностимулятора, выполненных в условиях повторяемости, мкг/кг;

$\bar{X}_i$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений,  $X_{i1}$  и  $X_{i2}$ , мкг/кг;

$r$  — предел повторяемости, значение которого приведено в таблице 7, %.

9.1.3 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, указанными в 8.2. Подтверждающий анализ проводят при наличии не менее четырех диагностических критериев, полученных для силированных производных или метилборатов, в соответствии с требованиями, указанными в 8.2.

9.2 Идентификацию бета-адреностимуляторов и их количественное определение проводят с соблюдением следующих условий для масс-спектрометрического детектирования:

- молекулярный ион используют для идентификации, если он 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 градуировочного раствора, в сопоставимых массовых концентрациях, измеренным при тех же самых условиях, в пределах максимально допустимых отклонений, указанных в таблице 4.

Т а б л и ц а 4 — Максимально допустимые отклонения для относительных ионных интенсивностей

Относительная интенсивность (% от основного пика)	ЭИ-ГХ-МС (относительная), %	ГХ-МС* (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 бета-адреностимуляторов необходимы минимум четыре идентифицирующих критерия. В таблице 5 приведено количество идентифицирующих критериев в зависимости от используемых масс-спектрометрических методов.



Т а б л и ц а 5 — 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 <sup>n</sup> ион предшественник	1,0
НР-МС <sup>n</sup> дочерние ионы	1,5
Масс-спектрометрия высокого разрешения (ВР)	2,0
ВР-МС <sup>n</sup> ион предшественник	2,0
ВР-МС <sup>n</sup> дочерние ионы	2,5

В таблице 6 показаны примеры числа идентифицирующих критериев ( $n$  — целое число), полученных для различных масс-спектрометрических методов.

Т а б л и ц а 6 — Примеры расчета идентифицирующих критериев

Методы ГХ-МС анализа	Число диагностических ионов	Количество идентифицирующих критериев
ГХ-МС (ЭИ или ХИ)	$N$	$n$
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

## 10 Метрологические характеристики

Значения допускаемой относительной расширенной неопределенности  $U_{rel}$ , % (при коэффициенте охвата  $k = 2$ ) измерений содержания индивидуальных бета-адреностимуляторов по установленному в настоящем стандарте методу приведены в таблице 7.

Т а б л и ц а 7 — Метрологические характеристики метода

Диапазон измерений содержания бета-адреностимуляторов, мкг/кг	Относительная расширенная неопределенность ( $k = 2$ ), $U_{rel}$ , %	Предел повторяемости, при $P = 0,95$ , $n = 2$ $r_{пов}$ , %
От 0,10 до 1,00 включ.	25	15
Св. 1,00 » 10,00 »	15	10
» 10,00	10	5

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), рассчитываются по формуле (7).

## 11 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 содержания бета-адреностимулятора, мкг/кг;

$\bar{X}_{i,c}$  — среднееарифметическое значение двух параллельных определений содержания  $i$ -го бета-адреностимулятора в анализируемой пробе, выполненных в условиях повторяемости, мкг/кг;

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

## 12 Контроль точности измерений

12.1 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят не реже одного раза в пять дней. Повторно анализируют образцы для градуировки хроматографа по 6.4 и определяют коэффициенты отклика для каждого бета-адреностимулятора (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 повторно.

12.2 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 бета-адреностимулятора ( $\bar{X}_{i,c}$ , 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 бета-адреностимулятора в анализируемом стандартном образце, мкг/кг;

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

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

$$U_{i,c} = 0,12 \bar{X}_{i,c}^{0,71}, \quad (7)$$

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

## 13 Требования безопасности

13.1 Используемые в работе реактивы относятся к веществам 1-го и 2-го класса 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.

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

13.3 Операции по приготовлению и дозированию градуировочных растворов следует проводить под тягой в вытяжном шкафу.

13.4 При проведении испытаний следует соблюдать ГОСТ 12.2.085 и [1].

13.5 При выполнении измерений на хромато-масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ Р 12.1.019, пожаровзрывобезопасности — по ГОСТ 12.1.018 и инструкцией по эксплуатации прибора.

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

**Библиография**

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

УДК 664.002.3:001.4:006.34

ОКС 65.120,  
67.050

Н09  
Н19  
Н11

ОКСТУ 9101  
9709

Ключевые слова: пищевые продукты, корма, продовольственное сырье, бета-адреностимуляторы (содержание), газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектором

---

Редактор *М.Е. Никулина*  
Технический редактор *Н.С. Гришанова*  
Корректор *В.Е. Нестерова*  
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 17.11.2011. Подписано в печать 06.12.2011. Формат 60 × 84  $\frac{1}{8}$ . Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,85. Тираж 171 экз. Зак. 1199.

---

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.

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