
**МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)**

**INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)**

**М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й
С Т А Н Д А Р Т**

**ГОСТ
ISO 13493—
2014**

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

**Метод определения содержания хлорамфеникола
(левомицетина) с помощью жидкостной
хроматографии**

(ISO 13493:1998, IDT)

Издание официальное



**Москва
Стандартинформ
2019**

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИПП» Россельхозакадемии) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 июня 2014 г. № 45)

За принятие проголосовали:

| Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97 | Сокращенное наименование национального органа по стандартизации |
|---|------------------------------------|---|
| Азербайджан | AZ | Азстандарт |
| Армения | AM | Минэкономики Республики Армения |
| Казахстан | KZ | Госстандарт Республики Казахстан |
| Киргизия | KG | Кыргызстандарт |
| Молдова | MD | Молдова-Стандарт |
| Россия | RU | Росстандарт |
| Таджикистан | TJ | Таджикстандарт |
| Узбекистан | UZ | Узстандарт |
| Украина | UA | Минэкономразвития Украины |

(Поправка).

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 сентября 2014 г. № 1048-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 13493—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 13493:1998 «Мясо и мясные продукты. Определение содержания хлорамфеникола. Метод жидкостной хроматографии» («Meat and meat products — Determination of chloramphenicol content — Method using liquid chromatography», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 6 «Мясо и мясные продукты» Технического комитета ISO/TC 34 «Пищевые продукты».

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р ИСО 13493—2005*

7 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

8 ИЗДАНИЕ (ноябрь 2019 г.) с Поправкой (ИУС 10—2019)

* Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 сентября 2014 г. № 1048-ст национальный стандарт ГОСТ Р ИСО 13493—2005 отменен с 1 января 2016 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 1998 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2015, 2019



В Российской Федерации 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

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения содержания хлорамфеникола (левомицетина) с помощью жидкостной хроматографии

Meat and meat products. Method for determination of chloramphenicol (levomycetin) content using liquid chromatography

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания хлорамфеникола (левомицетина) в мышечной ткани мяса, включая мясо птицы, с помощью жидкостной хроматографии.

Данный метод применим для определения хлорамфеникола при его содержании более 6,5 мкг/кг.

Данный метод неприменим к испорченным образцам.

П р и м е ч а н и е — Настоящий стандарт допускается применять для определения содержания хлорамфеникола во всех видах мяса и мясопродуктов. Однако межлабораторные испытания по установлению точности метода были проведены только на образцах мышечной ткани.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения).

ISO 3696:1987, Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Спецификация и методы испытаний)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 содержание хлорамфеникола в мясе и мясных продуктах: Содержание хлорамфеникола, измеренное в соответствии с методом, указанным в настоящем стандарте.

П р и м е ч а н и е — Содержание хлорамфеникола выражают в микрограммах на килограмм.

4 Сущность метода

Хлорамфеникол из части пробы для анализа экстрагируют водой. Экстракт фильтруют и полученный водный раствор очищают от липофильных компонентов методом твердофазной экстракции. Хлорамфеникол элюируют с экстракционного патрона дихлорметаном. Органический растворитель выпаривают и остаток очищают с помощью жидкостной экстракции в системе вода — толуол. Хлорамфеникол определяют методом обращенно-фазной хроматографии с детектированием в ультрафиолетовой (УФ) области спектра.

5 Реактивы

При отсутствии специальных указаний используют реактивы только официально признанной аналитической чистоты.

5.1 Вода, согласно требованиям ISO 3696, должна быть не ниже 3-й степени чистоты. Вода не должна содержать органические примеси.

5.2 Азот, пригодный для выпаривания растворителей.

5.3 Дихлорметан.

5.4 Толуол.

5.5 Ацетатный буфер, $c(\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}) = 0,01 \text{ моль/дм}^3$, $\text{pH} = 4,3$

Растворяют 0,82 г безводного ацетата натрия примерно в 970 см³ воды. С помощью pH-метра (см. 6.1) доводят pH до 4,3 добавлением уксусной кислоты массовой долей 50 %. Переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Доводят водой до метки и перемешивают.

5.6 Ацетонитрил для УФ спектроскопии.

5.7 Подвижная фаза

К 250 см³ ацетонитрила (см. 5.6) добавляют 750 см³ ацетатного буфера (см. 5.5) и тщательно перемешивают.

Перед использованием элюент фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм (см. 6.2) и дегазируют.

5.8 Основной раствор хлорамфеникола массовой концентрации 100 мкг/см³

Взвешивают 10 мг хлорамфеникола с точностью 0,1 мг и переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Добавляют метanol до метки и перемешивают.

Приготовленный основной раствор стабилен в течение 1 мес при хранении в темноте.

5.9 Стандартные растворы хлорамфеникола

Пипеткой вносят 5,0 см³ основного раствора (см. 5.8) в мерную колбу вместимостью 100 см³. Разбавляют водой до метки и перемешивают.

Разбавляют 1,0, 2,0, 5,0 и 15,0 см³ этого раствора до 100 см³ для получения четырех стандартных растворов с массовой концентрацией хлорамфеникола соответственно 0,05; 0,10; 0,25 и 0,75 мкг/см³.

Эти стандартные растворы стабильны в течение одной недели при хранении в темноте.

6 Оборудование

Используют обычное лабораторное оборудование, в частности:

6.1 pH-метр.

6.2 Мембранный фильтр с малым мертвым объемом и размером пор 0,22 мкм.

6.3 Механическое или электрическое устройство, пригодное для измельчения образца.

В качестве такого устройства могут быть использованы высокоскоростной ротационный куттер или мясорубка с решеткой, диаметр отверстий которой не превышает 4,0 мм.

6.4 Лабораторный гомогенизатор (например, гомогенизатор типа Стомахер или Вортекс)¹⁾.

6.5 Фильтровальная бумага обеззоленная быстрофильтрующая диаметром примерно 15 см.

Примечание — Например, можно использовать Ватман 41¹⁾.

6.6 Экстракционные патроны вместимостью 20 см³ с диатомитовой землей, которая задерживает липофильные компоненты из водных растворов.

Примечание — Можно использовать, например, картриджи Extrelut@ производства фирмы Merk, Дармштадт, Германия (№ 11737)¹⁾.

6.7 Водяная баня или нагревательный блок, позволяющие поддерживать температуру (40 ± 1) °C с устройством для выпаривания потоком азота (см. 5.2), или ротационный испаритель.

¹⁾ Это примеры коммерчески доступной продукции. Данная информация приведена только для удобства пользователей настоящего стандарта и не является поддержкой разработчика.

- 6.8 Центрифужные пробирки вместимостью 25 см³.
- 6.9 Смеситель для пробирок типа Вортекс, обеспечивающий частоту вращения примерно 700 мин⁻¹.
- 6.10 Центрифуга, обеспечивающая радиальное ускорение примерно 1000 г.
- 6.11 Микропипетки вместимостью 300 мм³.
- 6.12 Жидкостной хроматограф, оборудованный:
- насосом постоянного потока;
 - инжектором;
 - хроматографической колонкой внутренним диаметром 3 мм, длиной 20 см, заполненной обращенной фазой C8 или C18 с размером частиц 5 мкм, или другой колонкой с эквивалентными характеристиками;
 - детектором УФ/ВИД, обеспечивающим измерение при длине волны 285 нм, если возможно — диодно-матричным детектором (используется для подтверждения обнаружения хлорамфеникола);
 - самописцем с регулируемым диапазоном измерения или интегратором.

7 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, изложенного в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в [1].

Очень важно, чтобы в лабораторию поступали представительные пробы, которые в процессе хранения и транспортирования не были испорчены или изменены.

От представительной пробы, поступившей в лабораторию, отбирают лабораторную пробу массой не менее 200 г. Пробу хранят в условиях, исключающих ее порчу и изменение состава.

8 Подготовка пробы для анализа

Доводят температуру пробы до комнатной. Удаляют жировую ткань и несъедобные части пробы.

Измельчают лабораторную пробу с помощью устройства (см. 6.3). При этом следят за тем, чтобы температура пробы не превышала 25 °С. При использовании мясорубки пробу пропускают через нее не менее двух раз.

Приготовленную пробу помещают в герметично закрываемую емкость. Закрывают и хранят так, чтобы не допустить порчи и изменения ее состава.

При необходимости пробу хранят при температуре менее минус 18 °С.

Анализ пробы проводят как можно быстрее, но не позднее 24 ч после измельчения.

9 Проведение анализа

П р и м е ч а н и е — Для контроля повторяемости результатов (см. 11.2) проводят два параллельных определения в соответствии с 9.1—9.6.

9.1 Общая часть

Параллельно с анализом раствора (или серии растворов), полученного из анализируемой пробы (или нескольких анализируемых проб), проводят анализ раствора, полученного из пробы, заведомо не содержащей хлорамфеникол (контрольная пробы), и раствора, полученного из пробы, в которую добавлен хлорамфеникол в количестве 10 мкг/кг (контрольная пробы с внесенным хлорамфениколом).

9.2 Подготовка части пробы для анализа

В конической колбе вместимостью 100 см³ взвешивают 10 г (*m*) измельченной анализируемой пробы (см. раздел 8) с точностью 0,1 г.

9.3 Приготовление экстракта

Добавляют 40,0 см³ воды и энергично перемешивают в течение 3 мин с помощью лабораторного гомогенизатора (см. 6.4).

Общий объем образующейся водной фазы (V_1) равен 40,0 см³ плюс объем воды, содержащейся в части пробы для анализа (обычно в 10 г пробы содержится примерно 7,5 см³ воды).

Гомогенат фильтруют через бумажный фильтр (см. 6.5).

9.4 Вердофазная экстракция

Переносят 20 см³ полученного фильтрата (V_2) в экстракционный патрон (см. 6.6).

Через (15 ± 2) мин элюируют хлорамфеникол с помощью 70 см³ дихлорметана (см. 5.3). Выпаривают органическую фазу до объема примерно 1 см³ на водяной бане (см. 6.7) в слабом потоке азота (см. 5.2) или с помощью ротационного вакуумного испарителя (см. 6.7).

С помощью примерно 10 см³ дихлорметана (см. 5.3) переносят остаток в центрифужную пробирку (см. 6.8).

Осторожно выпаривают досуха.

9.5 Жидкостная экстракция

К остатку добавляют 400 мм³ воды (V_3) и 2,0 см³ толуола (см. 5.4) и перемешивают с умеренной интенсивностью в течение 1 мин на смесителе Вортекс (см. 6.9) с частотой вращения примерно 700 мин⁻¹.

Центрифугируют в течение 5 мин на центрифуге (см. 6.10) с радиальным ускорением 1000 g.

Пипеткой отбирают как можно больше органической фазы и отбрасывают ее.

Добавляют 1,5 см³ толуола и перемешивают с умеренной интенсивностью в течение 1 мин на смесителе Вортекс (см. 6.9) с частотой вращения примерно 700 мин⁻¹.

Центрифугируют в течение 5 мин на центрифуге (см. 6.10) с радиальным ускорением 1000 g.

Пипеткой отбирают как можно больше органической фазы и отбрасывают ее.

Микропипеткой (см. 6.11) переносят 300 мм³ водной фазы в подходящий сосуд.

9.6 Хроматографический анализ

9.6.1 Условия хроматографирования

Длина волны 285 нм;

диапазон шкалы детектора от 0,005 до 0,010 единиц оптической плотности, что соответствует полной шкале самописца;

шкала самописца 10 мВ;

скорость бумаги самописца 1,0 см/мин;

объемная скорость потока подвижной фазы (см. 5.7) 0,6 см³/мин;

объем анализируемого раствора, вводимый
(инжектируемый) в хроматограф 100 мм³.

П р и м е ч а н и е — Инжектируемый объем и объемная скорость потока зависят от размеров колонки.

9.6.2 Хроматографирование

После стабилизации системы жидкостного хроматографа (см. 6.12) инжектируют растворы, полученные из контрольной пробы и контрольной пробы с внесенным хлорамфениколом, четыре стандартных раствора хлорамфеникола (см. 5.9), раствор, приготовленный из анализируемой пробы по 9.5, и снова стандартные растворы хлорамфеникола (см. 5.9).

На хроматограммах проб проверяют наличие сигнала на участке, соответствующем времени удерживания хлорамфеникола.

9.6.3 Измерение

Измеряют высоты или площади хроматографических пиков хлорамфеникола для анализируемого раствора и стандартных растворов хлорамфеникола.

Измеренные для стандартных растворов высоты или площади пиков должны линейно зависеть от содержания хлорамфеникола в этих растворах.

П р и м е ч а н и е — С помощью диодно-матричного детектора может быть подтверждено обнаружение хлорамфеникола при его содержании в образце более 10 мкг/кг.

10 Обработка результатов

Содержание хлорамфеникола w , мкг/кг, в анализируемой пробе рассчитывают по формуле

$$w = \frac{h \cdot \rho \cdot V_1 \cdot V_3}{h_S \cdot m \cdot V_2},$$

где h — высота или площадь пика в единицах длины или площади, измеренные для анализируемого раствора;

h_S — высота или площадь пика, измеренные для одного из стандартных растворов (см. 5.9);

ρ — содержание хлорамфеникола в стандартном растворе, мкг/см³;

m — масса части пробы для анализа (см. 9.2), г;

V_1 — объем водной фазы, полученной после гомогенизации по 9.3, см³ ($V_1 = 40$ см³ + объем воды в пробе, взятой для анализа);

V_2 — объем фильтрата ($V_2 = 20$ см³), перенесенного по 9.4 в экстракционный патрон, см³;

V_3 — объем воды ($V_3 = 400$ мм³), добавленной по 9.5 к сухому остатку, мм³.

Результат вычислений округляют до 0,1 мкг/кг.

Результат испытаний нельзя корректировать на открываемость. Открываемость должна быть указана в протоколе испытаний (см. раздел 12).

11 Точность

11.1 Межлабораторные испытания

Точность метода была установлена с помощью межлабораторных испытаний, проведенных в соответствии с [2]¹⁾.

Результаты этой межлабораторной проверки опубликованы в [5]. Результаты этой проверки не могут быть распространены на области концентраций и матрицы, отличные от указанных в настоящем стандарте.

Результаты другой межлабораторной проверки, проведенной в соответствии с ISO 5725, показывают, что открываемость для мяса, мясных продуктов и мяса птицы воспроизводима и равна примерно 55 %.

11.2 Повторяемость

Абсолютное значение разности результатов двух независимых единичных испытаний, выполненных за короткий промежуток времени одним методом для одной идентичной анализируемой пробы в одной лаборатории одним оператором на одном и том же оборудовании, может превышать 2,1 мкг/кг не более чем в 5 % случаев при содержании хлорамфеникола в образце 10 мкг/кг.

11.3 Воспроизводимость

Абсолютное значение разности результатов двух независимых единичных испытаний, выполненных одним методом для идентичной анализируемой пробы в разных лабораториях разными операторами с использованием разного оборудования, может превышать 4,9 мкг/кг не более чем в 5 % случаев при содержании хлорамфеникола в образце 10 мкг/кг.

12 Протокол испытаний

В протоколе испытания необходимо указать:

- информацию, необходимую для полной идентификации пробы;
- использованный метод отбора проб (если известен);
- использованный метод испытаний с указанием ссылки на настоящий стандарт;
- условия проведения анализа, не отраженные в настоящем стандарте или считающиеся неоднозначными, а также все имевшие место случаи, которые могут повлиять на результаты анализа;
- полученный результат анализа или два результата анализа, если проводилась проверка повторяемости;
- открываемость.

¹⁾ Получение результатов по точности проводилось по ISO 5725:1986 (в настоящее время отменен).

Приложение ДА
(справочное)

**Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов
межгосударственным стандартам**

Таблица ДА.1 — Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

| Обозначение международного стандарта | Степень соответствия | Обозначение и наименование межгосударственного стандарта |
|--------------------------------------|----------------------|--|
| ISO 3696:1987 | — | * |

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.

Библиография

- [1] ISO 3100-1:1991 Meat and meat products — Sampling and preparation of test samples — Part 1: Sampling (Мясо и мясные продукты. Отбор образцов и подготовка проб. Часть 1. Отбор образцов)
- [2] ISO 5725:1986* Precision of test methods — Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests (Точность методов испытаний. Определение повторяемости и воспроизводимости стандартного метода испытаний с помощью межлабораторных испытаний)
- [3] ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions (Точность (правильность и прецизионность) методов измерений и результатов. Часть 1. Общие принципы и определения)
- [4] ISO 5725-2:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (Точность (правильность и прецизионность) методов измерений и результатов. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений)
- [5] Aerts M.L., Keukens H.J., Werdmuller G.A. Liquid Chromatographic Determination of Chloramphenicol Residues in Meat: Interlaboratory Study. JAOAC, 72 (4), 1989, pp. 570—576

* Заменен на ISO 5725-1:1994, ISO 5725-2:1994, ISO 5725-3:1994, ISO 5725-4:1994, ISO 5725-5:1998, ISO 5725-6:1994.

ГОСТ ISO 13493—2014

УДК 637.544:006.354

МКС 67.120.10

Ключевые слова: мясо, мясные продукты, хлорамфеникол, левомицетин, жидкостная хроматография

Редактор *Ю.А. Расторгуева*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 27.11.2019. Подписано в печать 09.12.2019. Формат 60×84¹/₈. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru