

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

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

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора,

руководитель Испытательного центра

 М.А. Гергель

2022 г.



**Методические указания по определению остаточного содержания
тетрациклинов в продукции животноводства методом
высокоэффективной жидкостной хроматографии
с масс-спектрометрическим детектированием**

МУ А-1/089

Москва
2021

Разработчик: федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов».

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

Телефон/факс: (499) 253-14-68/ (499) 253-14-91

E-mail: vgnki@fsvps.gov.ru

2 СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

АТТЕСТОВАНА: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»

Номер аттестата аккредитации юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений: аттестат аккредитации в области обеспечения единства измерений № РОСС.RU.0001.310354

Свидетельство об аттестации № 310354-0080 от 02.02.2022 г.

3 СВЕДЕНИЯ О РЕГИСТРАЦИИ

Регистрационный номер методик измерений по Федеральному реестру ФР.1.31.2022.42834

Содержание

1 Назначение и область применения	4
2 Нормативные ссылки	5
3 Требования к показателям точности измерений	8
4 Требования к средствам измерений, вспомогательному оборудованию, материалам, реактивам	10
5 Метод измерений	13
6 Требования безопасности, охраны окружающей среды	13
7 Требования к квалификации операторов	14
8 Требования к условиям измерений	14
9 Отбор и хранение проб	15
10 Подготовка к выполнению измерений	15
11 Порядок выполнения измерений	27
12 Обработка результатов измерений	27
13 Оформление результатов измерений	29
14. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности	29
15 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории	32
Библиография	33

1 Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает методику измерений остаточного содержания тетрациклинов в продукции животноводства методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием и предназначен для организаций и учреждений, независимо от их организационно-правовой формы, осуществляющих контроль безопасности продукции животноводства, а также мониторинг продукции животноводства по остаточному содержанию лекарственных средств.

Методика измерений входит в состав Методических указаний по определению остаточного содержания тетрациклинов в продукции животноводства методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс спектрометрическим детектированием.

Диапазон измерений массовой доли индивидуальных тетрациклинов представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Диапазоны измерений массовой доли определяемых соединений в продукции животноводства

Соединение	Диапазон измерения в образцах продукции животноводства, мкг/кг
Тетрациклин	от 1 до 1000
Окситетрациклин	от 1 до 1000
Хлортетрациклин	от 1 до 1000
Доксициклин	от 1 до 1000
Демеклоциклин	от 1 до 1000
Миноциклин	от 1 до 1000
Метациклин	от 1 до 1000
Тигециклин	от 10 до 1000

2 Нормативные ссылки

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

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

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

ГОСТ Р 58144-2018 Вода дистиллированная. Технические условия.

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

ГОСТ 12.2.085-2002 Сосуды, работающие под давлением. Клапаны предохранительные. Требования безопасности.

ГОСТ 12.1.009-2017 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Термины и определения.

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

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 3652-69 (СТ СЭВ 394-88) Реактивы. Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия.

ГОСТ 4814-57 Блоки мясные замороженные. Технические условия.

ГОСТ 5848-73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия.

ГОСТ 5962-2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия.

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

ГОСТ 7269-2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести.

ГОСТ 10652-73 Реактивы. Соль динатриевая этилендиамин-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты, 2-водная (трилон Б). Технические условия.

ГОСТ 19792-2017 Мед натуральный. Технические условия.

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры.

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

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

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

ГОСТ 28311-89¹ Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний.

ГОСТ 31339-2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб.

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

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

ГОСТ 31654-2012 Яйца куриные пищевые. Технические условия.

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

ТУ 2636-040-44493179-00 Ацетонитрил (метил цианистый, нитрил уксусной кислоты) для хроматографии х.ч.

ГОСТ 6552-80 Кислота ортофосфорная. Технические условия.

ГОСТ 4172-76 Реактивы. Натрий фосфорно-кислый двузамещенный 12-водный. Технические условия.

¹ Взамен с 01.03.2022 вводится в действие на территории Российской Федерации ГОСТ 28311-2021

Примечание При использовании настоящим документом на методику измерений целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при использовании настоящим документом на методику измерений следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Требования к показателям точности измерения

Настоящие методические указания устанавливают показатели точности и обеспечивают получение результатов измерений массовой доли тетрациклинов с погрешностью, не превышающей значений, приведенных в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели точности методики (значения относительной расширенной неопределенности результатов измерений, относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости).

Объект	Диапазон измерений массовой доли, мкг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U^* , $\pm U$, % при коэффициенте охвата $k = 2$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Предел повторяемости, r , % (при $P = 0,95$, $n = 2$)
Тетрациклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 100	26	11	13	31
	св. 100,0 до 1000	14	6	7	15
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	29	12	14	34
	св. 100 до 1000	19	6	9	15
Окситетрациклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	28	11	13	31
	св. 250 до 1000	16	7	8	20
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	30	6	15	17
	св. 100 до 1000	18	6	8	17
Хлортетрациклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	29	13	14	36
	св. 250 до 1000	18	8	9	23
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 250	26	10	13	28

	св. 250 до 1000	18	6	9	17
Доксициклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 100	25	11	12	31
	св. 100 до 1000	20	8	10	23
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	26	8	13	23
	св. 100 до 1000	10	8	10	23
Демеклоциклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 100	28	12	14	34
	св. 100 до 1000	25	10	12	28
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	28	13	14	36
	св. 100 до 1000	21	8	10	23
Миноциклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	28	13	14	36
	св. 250 до 1000	17	6	8	17
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	24	6	12	17
	св. 100 до 1000	18	6	9	17
Метациклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	26	12	13	34
	св. 250 до 1000	15	6	7	17
Субпродукты, яйца, яичные продукты, мёд	от 1,0 до 100	28	12	14	34
	св. 100 до 1000	18	8	9	23
Тигециклин					
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 10,0 до 100	24	8	12	23
	св. 100 до 1000	17	7	8	20
	от 10,0 до 100	27	7	12	20

Субпродукты, яйца, яичные продукты, мёд	св. 100 до 1000	16	5	7	14
---	-----------------	----	---	---	----

* - соответствует характеристики погрешности при доверительной вероятности P=0,95

Значения показателя точности (расширенной неопределенности) методики используют при:

- оформлению результатов измерений, выдаваемых лабораторией;
- оценке деятельности лабораторий на качество проведения измерений;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики измерений в лаборатории

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

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы.

4.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование

4.1.1 Масс-спектрометр с гибридным квадрупольным анализатором с диапазоном измерений m/z от 5 до 1200 «6500 QTRAP» (AB SCIEX, Канада, США) и компьютером с установленным программным обеспечением Analyst 1.6.2 (AB SCIEX, Канада, США), регистрационный номер записи в

Федеральном инф. фонде № 58075-14.

4.1.2 Система высокоэффективной жидкостной хроматографии, состоящая из бинарного насоса со смесителем, термостата хроматографической колонки, обеспечивающего температуру нагрева до $(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

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

4.1.4 Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

4.1.5 Весы специального (I) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с поверочным интервалом (e) не более 1 мг и действительной ценой деления (d) не более 0,1 мг. (Например: Весы аналитические Discovery DV214C (Ohaus, Швейцария), номер в госреестре 33646-06).

4.1.6 Весы высокого (II) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с поверочным интервалом (e) не более 0,1 г и действительной ценой деления (d) не более 0,01 г (например: EK-300i (A&D Company, Япония), номер в госреестре 25313-06).

4.1.7 Колбы 2-10-1 и цилиндры 1-1000-1 мерные по ГОСТ 1770.

4.1.8 Дозаторы одноканальные переменного объема (2 – 20) мм³, (10 – 100) мм³, (100 – 1000) мм³, (500 – 5000) мм³ по ГОСТ 28311.

4.1.9 Бутыль стеклянная БВ-1000 по ГОСТ 34037.

4.1.10 Пробирки полипропиленовые вместимостью 15 см³ с завинчивающимися крышками.

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

4.1.12 Модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей инертным газом и температурой термостатирования 40 °С.

4.1.13 Центрифуга лабораторная рефрижераторная со скоростью вращения не менее 2500 об/мин и диапазоном задаваемых температур от 4 °С до 20 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15 см³.

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

4.1.15 Микроцентрифуга лабораторная рефрижераторная со скоростью вращения не менее 10000 об/мин и диапазоном задаваемых температур от 4 °С до 20 °С, с адаптерами для микроцентрифужных пробирок вместимостью 1,5 см³.

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

4.1.17 Система получения деионизированной воды высокой чистоты.

4.1.18 Холодильник бытовой с цифровым контроллером температуры и рабочим диапазоном температур от 0 °С до 8°С.

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

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

4.1.21 Микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 см³.

4.1.22 Картриджи для твердофазной экстракции вместимостью не менее 6 см³, заполненные сорбентом на основе сополимера дивинилбензола и винилпирролидона, с частицами диаметром не более 50 мкм, массой 200 мг (к примеру, Oasis HLB).

4.1.23 Гомогенизатор лабораторный

4.1.24 Вакуумная система для твердофазной экстракции

4.2 Реактивы, материалы

4.2.1 метанол по ГОСТ 6995, квалификация "х.ч.",

4.2.2 ацетонитрил, квалификация по ТУ 6-09-06-1092-83 «ч.д.а.»,

4.2.3 кислота лимонная по ГОСТ 3652, квалификация "х.ч.",

4.2.4 муравьиная кислота по ГОСТ 5848, квалификация "х.ч.",

4.2.5 натрий фосфорнокислый двузамещенный дигидрат по ГОСТ 4172, квалификация "х.ч.",

4.2.6 этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевая соль (Трилон Б) по ГОСТ 10652, квалификация "х.ч.",

4.2.7 ортофосфорная кислота по ГОСТ 6552, квалификация "х.ч.",

4.2.8 тетрациклин, доля основного вещества 90%,

4.2.9 хлортетрациклин, доля основного вещества 90%,

4.2.10 окситетрациклин, доля основного вещества 90%,

4.2.11 доксициклин, доля основного вещества 90%,

4.2.12 демеклоциклин, доля основного вещества 90%.

4.2.13 метациклин, доля основного вещества 90%.

4.2.14 миноциклин, доля основного вещества 90%.

4.2.15 тигециклин, доля основного вещества 90%.

4.2.16 демеклоциклин, доля основного вещества 90%.

4.2.17 тетрациклин-С13,-N15, доля основного вещества 90%.

4.2.18 вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144.

Примечание 1 – допускается применение стандартных образцов веществ с отличными от приведенных выше содержаниями основного вещества (при приготовлении точных концентраций исходных растворов стандартных образцов выполняют пересчет массы навески стандартного образца на чистое вещество по формуле 1).

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

5 Метод измерений

Измерения содержания остаточных количеств лекарственных средств выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Детектирование анализируемых веществ проводят в режиме мониторинга выбранных реакций (*MRM*).

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

6 Требования безопасности, охраны окружающей среды

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

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

Операции по приготовлению и использованию градуировочных растворов аналитов и их изотопно-меченых аналогов следует проводить в вытяжном шкафу.

В связи с тем, что при работе на масс-спектрометре используются сжатые газы, следует соблюдать правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением по ГОСТ 12.2.085.

При выполнении измерений на масс-спектрометре следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.009 и инструкцией по эксплуатации прибора.

7 Требования к квалификации операторов

К операциям по подготовке проб и проведению измерений методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием допускают лиц, прошедших соответствующее обучение и освоивших настоящую методику измерений.

8 Требования к условиям измерений

При приготовлении растворов и подготовки проб к измерениям соблюдают следующие внешние условия:

температура воздуха, °С	(20 ± 5),
атмосферное давление, мм рт.ст.	от 630 до 800,
относительная влажность воздуха при температуре 25 °С, %	от 20 до 80.

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

9 Отбор и хранение проб

Отбор и хранение проб проводят в соответствии с ГОСТ 4814, ГОСТ 7269, ГОСТ 19792, ГОСТ 26809.1, ГОСТ 26809.2, ГОСТ 31339, ГОСТ 31467, ГОСТ Р 51447, ГОСТ 31720, ГОСТ 31654 и [1].

10 Подготовка к выполнению измерений

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы.

10.1 Приготовление растворов

10.1.1 Приготовление подвижных фаз

Подвижная фаза А

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ мерным цилиндром отмеряют 995,0 см³ деионизированной воды и соответствующим дозатором добавляют 5,0 см³ муравьиной кислоты. Раствор перемешивают и при необходимости дегазируют.

Срок хранения подвижной фазы А при комнатной температуре – 1 месяц.

Подвижная фаза Б

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ мерным цилиндром отмеряют 1000 см³ ацетонитрила.

Срок хранения подвижной фазы при комнатной температуре – 1 месяц.

10.1.2 Приготовление буфера для экстракции

10.1.2.1 Приготовление 0,1 М раствора лимонной кислоты

В мерную колбу на 1000 см³ добавляют 21 г лимонной кислоты и доводят объем до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Раствор годен к использованию в течение месяца.

10.1.2.2 Приготовление 0,2 М раствора гидрофосфата натрия

Растворяют 35,6 г двузамещенного фосфата натрия в 1000 см³ дистиллированной воды.

Раствор годен к использованию в течение месяца.

10.1.2.3 Приготовление буфера рН 4,0 для экстракции тетрациклинов

Смешивают растворы 10.1.2.1 и 10.1.2.2 в соотношении 60:40 в конечном объеме 2000 см³ и добавляют 37,2 г Трилона Б, доводят значение рН полученного раствора до 4,0 при помощи орто-фосфорной кислоты.

Раствор годен к использованию в течение месяца.

10.1.3 Приготовление раствора для элюирования

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ мерным цилиндром отмеряют 995 см³ метанола и 5 см³ муравьиной кислоты. Раствор перемешивают.

Срок хранения раствора для элюирования при комнатной температуре - 1 месяц.

10.1.4 Приготовление рабочих растворов

10.1.4.1 Приготовление исходных растворов стандартных образцов (C₀) тетрациклинов с массовой концентрацией 1000 мкг/см³

На весах (4.1.5) взвешивают 8,0-12,0 мг каждого стандартного образца и переносят в отдельные полипропиленовые пробирки вместимостью 15,0 см³. В пробирку со стандартными образцами весовым методом добавляют метанол, масса которого рассчитывается по формуле (1):

$$m_p = \frac{m \cdot M_a \cdot P_a \cdot \rho}{M_c \cdot 100 \cdot C}, \quad (1)$$

M_a – молярная масса чистого вещества, г/моль;

P_a – содержание основного вещества в стандартном образце, %;

ρ – плотность метанола, г/см³;

M_c – молярная масса используемого стандартного образца, г/моль;

c – концентрация раствора C_0 , г/см³;

100 – коэффициент перевода содержания основного вещества в стандартном образце из % в массовую долю.

Плотность метанола (ρ) указывают в зависимости от температуры воздуха в помещении в соответствии с Таблицей 3.

При использовании стандартных образцов с точной заявленной массой, разведение исходного раствора производят непосредственно в таре производителя. Количество растворителя, необходимое для разведения рассчитывают по формуле (1). После растворения жидкий слой переносят в полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³.

Таблица 3 – Зависимость плотности метанола от температуры воздуха в помещении.

Температура воздуха, °C	Плотность метанола (ρ), г/см ³
18,0	0,7933
18,5	0,7928
19,0	0,7924
19,5	0,7919
20,0	0,7914
20,5	0,7909
21,0	0,7905
21,5	0,7900
22,0	0,7895
22,5	0,7891
23,0	0,7886
23,5	0,7881
24,0	0,7877
24,5	0,7872
25,0	0,7867

Массовая концентрация аналита в растворе C_0 составляет 1 мг/см³.

Срок хранения растворов при температуре от минус 20 °C до минус 40 °C – не более 1 года.

10.1.4.2 Приготовление рабочего раствора (C_1)

С помощью соответствующего дозатора отбирают по 0,1 см³ растворов C_0 , переносят этот объём в мерную колбу вместимостью 10 см³, доводят объём раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация аналитов в растворе C_1 составляет 10 мкг/см³.

Срок хранения раствора C_1 при температуре от минус 20 °C до минус 40 °C – не более 3 месяцев.

10.1.4.3 Приготовление рабочего раствора (C₂)

С помощью соответствующего дозатора отбирают 1,0 см³ раствора C₁ и переносят этот объём в мерную колбу вместимостью 10 см³, доводят объём раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация аналитов в растворе C₂ составляет 1 мкг/см³.

Срок хранения раствора C₂ при температуре от минус 20 °С до минус 40 °С – не более 3 месяцев.

10.1.4.4 Приготовление рабочего раствора (C₃)

С помощью соответствующего дозатора отбирают 1,0 см³ раствора C₂ и переносят этот объём в мерную колбу вместимостью 10 см³, доводят объём раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация аналитов в растворе C₃ составляет 0,1 мкг/см³.

10.1.4.5 Приготовление рабочего раствора (C₄)

С помощью соответствующего дозатора отбирают 1,0 см³ раствора C₃ и переносят этот объём в мерную колбу вместимостью 10 см³, доводят объём раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация аналитов в растворе C₄ составляет 0,01 мкг/см³.

10.1.4.6 Приготовление исходных растворов (D₀) внутренних стандартов с массовой концентрацией 1 мг/см³

На весах (4.1.5) взвешивают 8,0-12,0 мг внутренних стандартов аналитов и переносят в отдельные полипропиленовые пробирки вместимостью 15 см³. В пробирки весовым методом добавляют растворитель - метанол, масса которого рассчитывается по формуле (1).

Срок хранения растворов при температуре от минус 20 °С до минус 40 °С – 1 год.

10.1.4.7 Приготовление рабочего раствора (D₁) внутренних стандартов

С помощью соответствующего дозатора отбирают 0,1 см³ раствора D₀ внутреннего стандарта и переносят этот объём в мерную колбу

вместимостью 10 см³, доводят объём раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутреннего стандарта аналита в растворе D₁ составляет 10 мкг/см³.

Срок хранения раствора при температуре от минус 20 °С до минус 40 °С – не более 3 месяцев.

10.1.4.8 Приготовление рабочего раствора (D₂) внутренних стандартов

С помощью соответствующего дозатора отбирают 1 см³ раствора D₁ и переносят этот объём в мерную колбу вместимостью 10 см³, доводят объём раствора до метки метанолом и перемешивают.

Массовая концентрация внутреннего стандарта в растворе D₂ составляет 1 мкг/см³.

Срок хранения раствора – не более 3 месяцев.

10.1.5 Приготовление градуировочных растворов (G₁ – G₆) тетрациклинов

10.1.5.1 Приготовление образца с концентрацией аналитов 1000 нг/см³ (G₇)

В пластиковый флакон вместимостью 15,0 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью соответствующего дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ (10.1.4.8) и 0,1 см³ рабочего раствора тетрациклинов C₁ (10.1.4.2), встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Добавляют к пробе 10,0 см³ буфера для экстракции (10.1.2.3), помещают на шейкер на 10 мин, затем центрифугируют 10 мин при 4 °С и 4000 об/мин. Отбирают супернатант и переходят к твердофазной экстракции (ТФЭ). Картридж для ТФЭ, содержащий 0,2 г сорбента HLB, предварительно активируют 6,0 см³ метанола и промывают 6,0 см³ дистиллированной воды. На следующем этапе полученный ранее супернатант наносят на картридж для ТФЭ и проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С в течение суток.

10.1.5.2 Приготовление образца с концентрацией аналитов 500 нг/см³ (G₆)

В пластиковый флакон вместимостью 15,0 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ и 0,05 см³ рабочего раствора тетрациклинов C₁, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Добавляют к пробе 10,0 см³ буфера для экстракции, помещают на шейкер на 10 мин, затем центрифугируют 10 мин при 4 °С и 4000 об/мин. Отбирают супернатант и переходят к твердофазной экстракции (ТФЭ). Картридж для ТФЭ, содержащий 0,2 г сорбента HLB, предварительно активируют 6,0 см³ метанола и промывают 6,0 см³ дистиллированной воды. На следующем этапе полученный ранее супернатант наносят на картридж для ТФЭ и проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С в течение суток.

10.1.5.3 Приготовление образца с концентрацией аналитов 250 нг/см³ (G₅)

В пластиковый флакон вместимостью 15,0 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ и 0,25 см³ рабочего раствора тетрациклинов C₂, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Добавляют к пробе 10,0 см³ буфера для экстракции, помещают на шейкер на 10 мин, затем центрифугируют 10 мин при 4 °С и 4000 об/мин. Отбирают супернатант и переходят к твердофазной экстракции (ТФЭ). Картридж для ТФЭ, содержащий 0,2 г сорбента HLB, предварительно активируют 6,0 см³ метанола и промывают 6,0 см³ дистиллированной воды. На следующем этапе полученный ранее супернатант наносят на картридж для ТФЭ и проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С в течение суток.

10.1.5.4 Приготовление образца с концентрацией аналитов 100 нг/см³ (G₄)

В пластиковый флакон вместимостью 15,0 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ и 0,1 см³ рабочего раствора тетрациклинов С₂, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Добавляют к пробе 10,0 см³ буфера для экстракции, помещают на шейкер на 10 мин, затем центрифугируют 10 мин при 4 °С и 4000 об/мин. Отбирают супернатант и переходят к твердофазной экстракции (ТФЭ). Картридж для ТФЭ, содержащий 0,2 г сорбента HLB, предварительно активируют 6,0 см³ метанола и промывают 6,0 см³ дистиллированной воды. На следующем этапе полученный ранее супернатант наносят на картридж для ТФЭ и проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4°С в течение суток.

10.1.5.5 Приготовление образца с концентрацией аналитов 50 нг/см³ (G₃)

В пластиковый флакон вместимостью 15,0 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ и 0,05 см³ рабочего раствора тетрациклинов С₂, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Добавляют к пробе 10,0 см³ буфера для экстракции, помещают на шейкер на 10 мин, затем центрифугируют 10 мин при 4 °С и 4000 об/мин. Отбирают супернатант и переходят к твердофазной экстракции (ТФЭ). Картридж для ТФЭ, содержащий 0,2 г сорбента HLB, предварительно активируют 6,0 см³ метанола и промывают 6,0 см³ дистиллированной воды. На следующем этапе полученный ранее супернатант наносят на картридж для ТФЭ и проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4 °С в течение суток.

10.1.5.6 Приготовление образца с концентрацией аналитов 10 нг/см³ (G₂)

В пластиковый флакон вместимостью 15,0 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ и 0,1 см³ рабочего раствора тетрациклинов С₃, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Добавляют к пробе 10,0 см³ буфера для экстракции, помещают на шейкер на 10 мин, затем центрифугируют 10 мин при 4 °С и 4000 об/мин. Отбирают супернатант и переходят к твердофазной экстракции (ТФЭ). Картридж для ТФЭ, содержащий 0,2 г сорбента HLB, предварительно промывают последовательно активируют 6,0 см³ метанола и промывают 6,0 см³ дистиллированной воды. На следующем этапе полученный ранее супернатант наносят на картридж для ТФЭ и проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4°С в течение суток.

10.1.5.7 Приготовление образца с концентрацией аналитов 1 нг/см³ (G₁)

В пластиковый флакон вместимостью 15,0 см³ помещают 1,0 г образца, не содержащего искомым аналитов (бланк). С помощью дозатора к образцу добавляют 0,05 см³ раствора D₂ и 0,1 см³ рабочего раствора тетрациклинов С₄, встряхивают на шейкере-вортексе 1 минуту. Добавляют к пробе 10,0 см³ буфера для экстракции, помещают на шейкер на 10 мин, затем центрифугируют 10 мин при 4 °С и 4000 об/мин. Отбирают супернатант и переходят к твердофазной экстракции (ТФЭ). Картридж для ТФЭ, содержащий 0,2 г сорбента HLB, предварительно активируют 6,0 см³ метанола и промывают 6,0 см³ дистиллированной воды. На следующем

этапе полученный ранее супернатант наносят на картридж для ТФЭ и проводят пробоподготовку согласно п. 10.4.

Приготовленный образец хранят в холодильнике при температуре 4°C в течение суток.

10.2 Подготовка прибора к измерениям

Подготовку ВЭЖХ-МС системы к работе осуществляют в соответствии с техническим руководством по эксплуатации прибора.

10.2.1 Параметры настройки жидкостного хроматографа

Температура термостата колонки: 40 °С;

Скорость потока подвижной фазы: 0,2 см³/мин.

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования: с 0,0 по 8,0 минуты элюирование 95 % подвижной фазы А; с 8,0 по 8,1 минуты переход от 95 % до 30 % фазы А, с 8,1 по 12,0 минуту – уравнивание колонки в 95 % фазы А.

Таблица 4 – Хроматографические условия разделения аналитов

Время, мин.	Поток, см ³ /мин	Фаза А (об.%)	Фаза В (об.%)
0	0,2	95	5
8	0,2	30	70
8,1	0,2	95	5
12	0,2	95	5

10.2.2 Параметры настройки масс-спектрометрического детектора

Таблица 5 – Оптимизированные значения параметров источника ионизации

Температура источника (TEM):	450 °С
Напряжение на капилляре (IS):	4500 В
Разрешение Q1/Q3:	Unit
Значение вспомогательного газа (CUR):	25
Значение газа источника (GS1):	45
Значение распыляющего газа (GS2):	45
Значение газа ячейки коллизий (CAD):	Medium

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

№	Определяемое вещество	Ион-предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Потенциал декластеризации, В	Энергия столкновений, эВ / Потенциал на выходе из ячейки, В
1	Тетрациклин	445,2	410,2	90	25/11
			427,2	90	18/11
2	Окситетрациклин	461,2	444,2	90	21/12
			426,1	90	26/11
3	Хлортетрациклин	479,1	462,1	90	22/11
			444,2	90	28/12
4	Доксициклин	445,2	428,2	90	23/11
5	Демеклоциклин	465,1	448,1	90	22/12
			430,1	90	30/11
6	Миноциклин	458,3	441,2	40	22/13
			337,0	40	50/13
7	Метациклин	443,2	426,0	40	21/13
			201,0	25	44/13
8	Тигециклин	586,0	513,0	162	35/13
			569,0	160	28/13
9	Тетрациклин- <i>C13,-N15</i>	469,3	433,2	90	25/11

10.3 Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику строят заново перед каждой новой серией измерений. Для нахождения градуировочной характеристики используют не менее четырех градуировочных растворов.

Процедура приготовления градуировочных растворов описана в разделе 10.1.5. Для приготовления проводят обработку "чистых" проб (бланков) согласно разделу 10.4, не содержащих действующих веществ, к которым перед обработкой добавляют раствор внутренних стандартов и рабочие растворы аналитов в количестве, необходимом для получения концентраций в соответствующих пределах от 1 до 1000 нг/см³ для каждого определяемого вещества (10.1.5), для тигециклина – в пределах от 10 до 1000 нг/см³.

В качестве внутреннего стандарта используют изотопно меченый тетрациклин (в качестве примера: тетрациклин-С13,-N15, тетрациклин-Д6, окситетрациклин-С13,-N15, тигециклин-Д9).

Градуировочную зависимость строят с помощью программы «Analyst» в координатах «отношение площади пика определяемого

вещества к площади пика внутреннего стандарта этого вещества» – «концентрация определяемого вещества в градуировочном растворе к концентрации внутреннего стандарта», при этом в программе указывают концентрации стандартов и внутреннего стандарта согласно Таблице 7.

Таблица 7 – концентрации стандартов и внутреннего стандарта тетрациклинов для занесения в программу обсчета

Градуировочный раствор	Концентрация внутреннего стандарта в градуировочном растворе (нг/см ³)	Концентрация стандартов в градуировочном растворе (нг/см ³)
G1	50	1
G2	50	10
G3	50	50
G4	50	100
G5	50	250
G6	50	500
G7	50	1000

При построении градуировочной зависимости используют линейную регрессию, при этом коэффициент корреляции должен быть не менее 0,98.

Для нахождения градуировочной характеристики градуировочные растворы анализируют с использованием параметров пункта 10.2. Подвижную фазу, реагенты и матрицу предварительно проверяют на наличие тетрациклинов или других соединений, мешающих определению.

10.4 Подготовка проб

10.4.1 Подготовка проб мяса, мясной продукции, молока, молочной продукции, рыбы, рыбной продукции, субпродуктов, мёда

Перед началом анализа образец гомогенизируют, взвешивают на весах (4.1.6) 1,0 г образца в полипропиленовой пробирке вместимостью 15,0 см³. С помощью соответствующего дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ рабочего раствора внутренних стандартов D₂, добавляют к пробе 10,0 см³ раствора для экстракции и помещают пробирку на 10 мин в шейкер для перемешивания. Затем центрифугируют в течение 10 мин при температуре 4 °С. Переносят надосадочную жидкость на картриджи, предварительно активированные 6,0

см³ метанола и промытые 6,0 см³ дистиллированной воды. После прохождения экстракта картриджи промывают 6,0 см³ деионизированной воды. Картриджи сушат под вакуумом в течение 5 минут. Элюирование проводят в полипропиленовую пробирку вместимостью 15,0 см³, пропуская через картридж 6,0 см³ раствора для элюирования. Элюат помещают в систему отдувки растворителей и концентрируют до 0,5 см³ при 40 °С. Остаток перерастворяют в 0,5 см³ подвижной фазы А, переносят в микроцентрифужную пробирку и доводят объем фазой А до 1,0 см³. Полученный раствор центрифугируют при 4 °С 10 минут, при необходимости фильтруют, переносят в виалу для автосамплера жидкостного хроматографа и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

Сухие молочные продукты восстанавливают по ГОСТ 29245 (пункт 3.4).

10.4.2 Подготовка проб яиц, яичной продукции

Перед началом анализа образец гомогенизируют, взвешивают на весах 1,0 г образца в полипропиленовой пробирке вместимостью 15,0 см³. С помощью соответствующего дозатора в пробирку вносят 0,05 см³ рабочего раствора внутренних стандартов D₂, добавляют к пробе 10,0 см³ раствора для экстракции и помещают пробирку на 10 мин в шейкер для перемешивания. Затем центрифугируют в течение 10 мин при температуре 4 °С. После центрифугирования супернатант переливают в чистую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см³ и проводят удаление жировых фракций, осторожно приливая 4 см³ гексана и помещая на 10 минут в шейкер для перемешивания. Далее образец центрифугируют при в течение 10 мин при 4 °С. После центрифугирования гексановый слой отбрасывают.

Затем проводят очистку пробы методом ТФЭ и дальнейшую подготовку пробы согласно п.10.4.1.

11 Порядок выполнения измерений

При выполнении измерений в инжектор хроматографа вводят анализируемый раствор, полученный в п. 10.4. Подвижную фазу и реагенты предварительно проверяют на наличие тетрациклинов или других соединений, мешающих определению. С помощью установленных градуировочных характеристик проводят количественное определение тетрациклинов в анализируемом растворе.

12 Обработка результатов измерений

Результаты измерений обрабатываются с помощью программы Analyst и выдаются в виде массовой доли анализируемого вещества. При этом в программе, при обсчете, концентрация внутреннего стандарта в образце принимается равной 50 нг/см³.

12.1 За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (2):

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

где X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли вещества, мкг/кг,

r – значение предела повторяемости, % (таблица 2).

12.2 Если условие (2) не выполняется, получают еще два результата в полном соответствии с данной методикой измерений. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие:

$$\frac{4 \cdot |X_{\max} - X_{\min}| \cdot 100}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)} \leq CR_{0,95}, \quad (3)$$

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

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

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

для $n = 4$

$$CR_{0,95} = 3,6 \cdot U_r, \quad (4)$$

где U_r – показатель повторяемости, % (таблица 2).

12.3 При выполнении условия (3) за окончательный результат измерений массовой доли анализируемого вещества \bar{X} (%) принимают среднее арифметическое значение результатов четырёх параллельных определений, которое вычисляют по формуле:

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4}{4}. \quad (5)$$

12.4 При невыполнении условия (3) за окончательный результат измерений массовой доли анализируемого вещества \bar{X} (%) принимают значение медианы результатов четырёх параллельных определений, которое рассчитывают следующим образом:

- упорядочивают результаты параллельных определений по возрастанию значений массовой доли аналита:

$$\bar{X}_{med(4)} = med \{x_{(1)} < x_{(2)} < x_{(3)} < x_{(4)}\}, \quad (6)$$

где $x_{(1)}, x_{(2)}, x_{(3)}, x_{(4)}$ – четыре результата параллельных определений, выстроенные в порядке возрастания значений массовой доли анализируемого вещества;

- отбрасывают наименьший и наибольший результаты единичных измерений, два оставшихся результата измерений усредняют:

$$\bar{X}_{med(4)} = \frac{x_{(2)} + x_{(3)}}{2}. \quad (7)$$

Кроме того, выясняют и устраняют причины появления неприемлемых результатов параллельных определений.

12.5 Если результат превышает верхний предел измерения, то выдают результат в следующей формулировке: «Содержание аналита превышает верхний предел диапазона измерения методики».

13 Оформление результатов измерений

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

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

где $\bar{X}_{k,c}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений массовой доли аналита, признанных приемлемыми по 12.1, 12.2, мкг/кг;

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

14. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности

14.1 Расхождение между результатами измерений, полученными в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности, не должно превышать предела внутрилабораторной прецизионности:

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

(8)

где X_1 и X_2 – результаты измерений массовой доли индивидуальных соединений тетрациклинов, полученные в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности;

R_L – предел внутрилабораторной прецизионности, выраженный в относительных единицах. Значения предела внутрилабораторной прецизионности приведены в таблице 8.

14.2 При выполнении условия (8) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их среднее арифметическое значение.

Таблица 8 – Относительные значения пределов внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P=0,95$

Объект	Диапазон измерений массовой доли, мкг/кг	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности $P=0,95$ расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_{Д}$, %
Тетрациклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 100	31
	св. 100,0 до 1000	17
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	33
	св. 100 до 1000	21
Окситетрациклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	31
	св. 250 до 1000	19
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	35
	св. 100 до 1000	19
Хлортетрациклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	33
	св. 250 до 1000	21
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 250	31
	св. 250 до 1000	21
Доксициклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 100	28
	св. 100 до 1000	24

Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	31
	св. 100 до 1000	24
Демеклоциклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 100	33
	св. 100 до 1000	28
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	33
	св. 100 до 1000	24
Миноциклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	33
	св. 250 до 1000	19
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	28
	св. 100 до 1000	21
Метациклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 1,0 до 250	31
	св. 250 до 1000	16
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 1,0 до 100	33
	св. 100 до 1000	21
Тигециклин		
Мясо и мясные продукты, молоко, молочные продукты рыба, рыбные продукты	от 10,0 до 100	28
	св. 100 до 1000	19
Субпродукты, яйца, яичные продукты мёд	от 10,0 до 100	28
	св. 100 до 1000	16

15 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории рекомендуется осуществлять по ГОСТ Р ИСО 5725-6, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6 и показателя правильности по 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6. Проверка стабильности может быть осуществлена с применением контрольных карт Шухарта.

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

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

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

Библиография

[1] Письмо Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 8 августа 2012 года № ФС-ЕН-2/10267 «Об осуществлении отбора проб (образцов) от подконтрольных товаров для проведения лабораторных исследований в испытательных центрах (лабораториях)».

[2] РМГ 76-2014 Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа.

[3] Р 50.2.003-2000 ГСИ «Внутренний оперативный контроль качества. Пакет программ Qcontrol».