МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34821— 2021

МЕД НАТУРАЛЬНЫЙ

Определение содержания глюфосината, глифосата и его метаболита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2022

gost.e-ecolog.ru

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 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность» (МТК 335)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 24 декабря 2021 г.№ 146-П)

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
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 февраля 2022 г. № 89-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34821—2021 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 15 июня 2022 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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»

© Оформление. ФГБУ «РСТ», 2022

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

Поправка к ГОСТ 34821—2021 Мед натуральный. Определение содержания глюфосината, глифосата и его метаболита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 9 2022 г.)

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

МЕД НАТУРАЛЬНЫЙ

Определение содержания глюфосината, глифосата и его метаболита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения

Natural honey. Determination of the content of glyphosinate, glyphosate and its metabolite by high-performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry high resolution detector

Дата введения — 2022—06—15

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на натуральный мед и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения (далее — ВЭЖХ—ВПМС/МС) для определения содержания глифосата в диапазоне измерений от 0,05 до 2,00 мг/кг, его метаболита — от 0,10 до 2,00 мг/кг и глюфосината в диапазоне измерений от 0,50 до 20,00 мг/кг.

Примечание — Метаболит глифосата: аминометилфосфоновая кислота (далее — АМФК).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

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

ГОСТ 12.4.021 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

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

ГОСТ 19792—2017 Мед натуральный. Технические условия

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

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

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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандарти-

Издание официальное

зации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru ю указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Метод основан на экстракции глифосата, аминометилфосфоновой кислоты (АМФК), глюфосината из анализируемой пробы меда с последующей очисткой методом твердофазной экстракции и количественным определением их методом ВЭЖХ—ВПМС/МС. Детектирование анализируемых веществ проводят в режиме получения ионов фрагментов (MS/MS). Количественное определение анализируемых веществ выполняют методом внутреннего стандарта по площадям пиков идентифицированных соединений относительно градуировочной характеристики, полученной при анализе матричных градуировочных растворов.

4 Требования безопасности и условия выполнения измерений

4.1 При работе с химическими реактивами необходимо соблюдать общие требования безопасности обращения с вредными веществами, установленные в ГОСТ 12.1.007. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных в ГОСТ 12.1.005.

4.2 Помещения, в которых проводят анализ и подготовку проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021.

4.3 Приготовление градуировочных растворов и их изотопно-меченых аналогов проводят в вытяжном шкафу.

4.4 При работе с электроприборами необходимо соблюдать требования безопасности по ГОСТ 12.1.019, правила безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением по ГОСТ 12.2.085 и инструкций по эксплуатации приборов.

4.5 К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих высшее специальное образование, прошедших соответствующий инструктаж, владеющих техникой хромато-масс-спектрометрии и изучивших инструкции по эксплуатации используемых приборов.

4.6 При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . от 20 °С до 30 °С;
- относительная влажность воздуха . . . . . от 25 % до 85 %.

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

5.1 Для определения содержания глифосата, АМФК, глюфосината применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и посуду:

- весы высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой погрешности не более ±0,01 г;
- весы специального класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ±0,1 мг;
- масс-спектрометр с времяпролетным детектором высокого разрешения с источником ионизации электроспреем с возможностью нагрева, и диапазоном измерений от 50 до 500 атомных единиц массы (а. е. м.) в режиме получения ионов фрагментов*;

---

* Допускается использовать иное масс-спектрометрическое оборудование вида тройной квадруполь, позволяющее воспроизводить технические и метрологические характеристики, указанные в настоящем стандарте. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

- систему высокоэффективную жидкостную хроматографическую, оснащенную бинарным насосом высокого давления со смесителем, термостатом хроматографической колонки, обеспечивающим температуру нагрева до (50 ± 1) °С;

- шейкер вортексного типа с вставкой для одной пробирки и диапазоном скорости от 150 до 2500 об/мин;

- колонку хроматографическую* длиной 100 мм и внутренним диаметром 1,0 мм, заполненную сорбентом** на основе С18, с размером частиц сорбента не более 1,7 мкм;

- компьютер с установленным программным обеспечением для управления масс-спектрометром и обработки результатов измерений;

- модуль термостатируемый нагревательный с системой отдувки растворителей, позволяющий проводить термостатирование при температуре 45 °С;

- устройство вакуумное для твердофазной экстракции;

- холодильник бытовой с рабочим диапазоном температур от 0 °С до 10 °С;

- центрифугу лабораторную рефрижераторную со скоростью вращения ротора не менее 4750 об/мин и диапазоном температур от 4 °С до 25 °С, с адаптерами для пробирок вместимостью 15 $см^3$;

- картриджи для твердофазной экстракции вместимостью не менее 3 $см^3$, заполненные 60 мг гидрофильно-липофильным сбалансированным обращенно-фазовым сорбентом с диаметром частиц от 30 до 50 мкм***;

- картриджи для твердофазной экстракции вместимостью не менее 3 $см^3$, заполненные 60 мг смешанным слабым катионообменным и обращенно-фазовым сорбентом с диаметром частиц сорбента 60 ± 20 мкм*4;

- баню ультразвуковую;

- систему получения деионизированной воды высокой чистоты с удельным сопротивлением 18 МОм · см;

- генератор азота, чистота получаемого азота не менее 90 %;

- компрессор;

- фильтры мембранные*5 с размером диаметра пор не более 0,2 мкм;

- пробы, не содержащие глифосат, АМФК, глюфосинат, проанализированные ранее в соответствии с требованиями разделов 7 и 8, в зависимости от типа исследуемой матрицы («чистые» пробы);

- пробирки для автоматического устройства ввода проб, вместимостью 2 $см^3$, с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками;

- пробирки полипропиленовые вместимостью 15 и 50 $см^3$ с завинчивающимися крышками;

- бутыль стеклянную БТ-ГВ-1000 по ГОСТ 34037;

- колбы 1—10 (100, 200)—1 по ГОСТ 1770;

- дозаторы одноканальные переменной вместимости 1—10, 10—100, 100—1000 $мм^3$, 1—5 $см^3$ по ГОСТ 28311;

- цилиндры 1—10 (50, 250, 1000)—1 по ГОСТ 1770.

5.2 При определении содержания глифосата, АМФК, глюфосината применяют следующие реактивы:

- аммония гидроксид с массовой долей основного вещества не менее 25 %;

---

* Например, колонка хроматографическая Waters ACQUITY BEH C18 1,0 × 100 mm, 1,7 μm. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других колонок с характеристиками, позволяющими реализовывать данный метод.

** Например, сорбент Ethylene Bridged Hybrid. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

*** Например, картридж Waters Oasis HLB вместимостью 3 $см^3$ и массой сорбента 60 мг. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других колонок с аналогичными характеристиками.

*4 Например, картридж Waters Oasis WCX вместимостью 3 $см^3$ и массой сорбента 60 мг. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования других колонок с аналогичными характеристиками.

*5 Мембранные фильтры PTFE. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

- аммония ацетат с массовой долей основного вещества не менее 99 %;
- ацетон с массовой долей основного вещества не менее 99 %;
- воду деионизированную высокой чистоты с удельным сопротивлением 18,2 МОм · см при температуре 25 °С;
- кислоту муравьиную с массовой долей основного вещества не менее 99 %;
- кислоту соляную с массовой долей основного вещества не менее 37 %;
- кислоту уксусную с массовой долей основного вещества не менее 99 %;
- метанол с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %;
- натрия гидроксид с массовой долей основного вещества не менее 97 %;
- натрия тетраборат десятиводный с массовой долей основного вещества не менее 99,5 %;
- 9-флуоренилметоксикарбонил хлорид (ФМОК-хлорид) с массовой долей основного вещества не менее 97 %;
- эфир диэтиловый с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

5.3 При определении содержания глифосата, АМФК, глюфосината применяют следующие стандартные вещества.

5.3.1 Для приготовления исходных растворов с массовой долей основного вещества не менее 95,0 %:

- глифосат;
- глюфосинат аммоний;
- аминометилфосфоновая кислота (АМФК).

5.3.2 Для приготовления исходного раствора внутреннего стандарта — глифосат -2-^{13}C,^{15}N с массовой долей основного вещества не менее 90 %.

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

6 Подготовка к проведению измерений

6.1 Приготовление растворов

6.1.1 Приготовление раствора тетрабората натрия с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 200 см^3 вносят 7,26 г десятиводного тетрабората натрия, растворяют в 190 см^3 деионизированной воды и помещают в ультразвуковую баню на 5 мин, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, перемешивают.

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

6.1.2 Приготовление раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,41 г гидроксида натрия, растворяют небольшим количеством деионизированной воды, перемешивают, доводят объем раствора до метки деионизированной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 2 мес.

6.1.3 Приготовление боратного буферного раствора

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 49,9 см^3 раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3 (см. 6.1.2), доводят объем раствора до метки раствором тетрабората натрия с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3 (см. 6.1.1), перемешивают.

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

6.1.4 Приготовление раствора хлорида 9-флуоренилметоксикарбонила с массовой концентрацией 3 мг/см^3

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 30,9 мг хлорида 9-флуоренилметоксикарбонила (в пересчете на чистое вещество), приливают порциями ацетон до метки, перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре от 0 °С до 5 °С — не более одной недели.

6.1.5 Приготовление 5 %-ного раствора муравьиной кислоты

В полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см^3 вносят 2,5 см^3 муравьиной кислоты и 47,5 см^3 деионизированной воды, перемешивают.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более одной недели.

6.1.6 Приготовление смеси метанола, гидроксида аммония, воды в объемном соотношении (90:1:9)

В полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см^3 вносят 45 см^3 метанола, 0,5 см^3 гидроксида аммония и 4,5 см^3 деионизированной воды.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более одной недели.

6.1.7 Приготовление смеси воды, метанола, уксусной кислоты в объемном соотношении (79:20:1)

В полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см^3 вносят 39,5 см^3 деионизированной воды, 10 см^3 метанола и 0,5 см^3 уксусной кислоты.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более одной недели.

6.1.8 Приготовление подвижных фаз А и Б

6.1.8.1 Для приготовления подвижной фазы А в стеклянную бутыль вместимостью 1000 см^3 вносят 1,54 г ацетата аммония, приливают 998,5 см^3 деионизированной воды, перемешивают, получая 0,02 М раствор.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 2 мес.

6.1.8.2 Для приготовления подвижной фазы Б в стеклянную бутыль вместимостью 1000 см^3 вносят 1,54 г ацетата аммония, приливают 998,5 см^3 метанола, перемешивают, получая 0,02 М раствор.

Срок хранения растворов при комнатной температуре — не более 3 мес.

6.1.9 Приготовление смеси воды, метанола, муравьиной кислоты в объемном соотношении (65:30:5)

В полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см^3 с помощью цилиндра отмеривают 15 см^3 метанола, одноканальным дозатором переменного объема 2,5 см^3 муравьиной кислоты и с помощью цилиндра 32,5 см^3 деионизованной воды.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более одной недели.

6.2 Приготовление матричных градуировочных растворов

6.2.1 Приготовление исходных растворов C_0 и исходного раствора внутреннего стандарта D_0 с массовыми концентрациями 500 мкг/см^3

Для приготовления исходных растворов глифосата, АМФК, глюфосината — C_0 и исходного раствора глифосата -2-^{13}C,^{15}N — внутреннего стандарта глифосата D_0 вычисляют необходимую массу *i*-го вещества m_i, эквивалентную 5,0 мг, с учетом содержания основного вещества для каждого определяемого аналита по формуле

$$m_i = 5 \cdot \frac{M_0}{M_i} \cdot \frac{100}{c}, \quad (1)$$

где 5 — исходная масса определяемого аналита, мг;

M_0 — молярная масса соли аналита (для аналитов, растворы которых приготавливаются из солей), г/моль;

M_i — молярная масса определяемого аналита, г/моль;

c — массовая доля определяемого аналита в исходном веществе, %.

В мерные колбы вместимостью 10 см^3 по отдельности вносят вычисленные массы исходных веществ (взвешивание проводят с точностью до первого десятичного знака), доводят объемы растворов до метки деионизированной водой, перемешивают и помещают в ультразвуковую баню на 5 мин.

Растворы хранят в полипропиленовых пробирках с завинчивающимися крышками.

Срок хранения растворов при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.2 Приготовление рабочего стандартного раствора C_1 с массовыми концентрациями глифосата и АМФК 100 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят по 2 см^3 исходных растворов глифосата и АМФК C_0, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, перемешивают.

Срок хранения раствора в полипропиленовой пробирке с завинчивающейся крышкой при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 2 мес.

6.2.3 Приготовление рабочего стандартного раствора C_{1a} с массовой концентрацией глюфосината 100 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 2 см^3 исходного раствора глюфосината C_0, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, перемешивают.

Срок хранения раствора в полипропиленовой пробирке с завинчивающейся крышкой при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 2 мес.

6.2.4 Приготовление рабочего стандартного раствора C_2 с массовыми концентрациями глифосата и АМФК 10 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 1 см^3 рабочего стандартного раствора C_1, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, перемешивают.

Срок хранения раствора в полипропиленовой пробирке с завинчивающейся крышкой при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 1 мес.

6.2.5 Приготовление рабочего раствора внутреннего стандарта D_1 с массовой концентрацией глифосата -2-^{13}C,^{15}N 100 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 2 см^3 исходного раствора внутреннего стандарта D_0, доводят объем раствора до метки деионизированной водой, перемешивают.

Срок хранения раствора в полипропиленовой пробирке с завинчивающейся крышкой при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 3 мес.

6.2.6 Приготовление матричных градуировочных растворов G_1—G_6

Матричные градуировочные растворы G_1—G_6 готовят в полипропиленовых пробирках вместимостью 15 см^3 из «чистых» проб массой 1 г, в которые вносят рабочий раствор внутреннего стандарта D_1 (см. 6.2.5) и рабочие растворы определяемых аналитов C_{1a} (см. 6.2.3), C_2 (см. 6.2.4) в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 — Приготовление матричных градуировочных растворов G_1—G_6

Наименование и массовая концентрация матричного градуировочного раствора (глифосата, АМФК, глюфосината)	Вносимый объем рабочего раствора, см^3		
	C_{1a}	C_2	D_1
G_1 (0,05 мкг/см^3/0,50 мкг/см^3)	0,005	0,005	0,050
G_2 (0,1 мкг/см^3/1,0 мкг/см^3)	0,010	0,010	0,050
G_3 (0,2 мкг/см^3/2,0 мкг/см^3)	0,020	0,020	0,050
G_4 (0,5 мкг/см^3/5,0 мкг/см^3)	0,050	0,050	0,050
G_5 (1,0 мкг/см^3/10,0 мкг/см^3)	0,100	0,100	0,050
G_6 (2,0 мкг/см^3/20,0 мкг/см^3)	0,200	0,200	0,050

Проводят подготовку проб согласно разделу 7 (без повторного добавления раствора внутреннего стандарта D_1).

Срок хранения растворов G_1—G_6 при температуре от 2 °С до 8 °С — не более 12 ч.

7 Отбор и подготовка проб

7.1 Отбор проб

Отбор проб меда — по ГОСТ 19792.

7.2 Подготовка проб

7.2.1 Экстракция проб

Пробы готовят по ГОСТ 19792—2017 (подраздел 7.2). Подготовку проб проводят в соответствии с рисунком 1.

7.2.2 Очистка подготовленных проб методом ТФЭ

7.2.2.1 Очистку проводят в два этапа, используя картриджи для твердофазной экстракции с разными сорбентами.

7.2.2.2 Активируют и уравновешивают картридж для твердофазной экстракции с гидрофильно-липофильным сбалансированным обращенно-фазовым сорбентом пропуская последовательно 1,5 см^3 метанола, 1,5 см^3 деионизированной воды и 1,0 см^3 экстракта (см. 7.2.1). Промывную фракцию отбрасывают. Пропускают через картридж 1 см^3 оставшегося в пробирке экстракта, собирая полученный раствор в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3. К экстракту вносят 1 см^3 боратного

буферного раствора (см. 6.1.3) и 1 см^3 раствора хлорида 9-флуоренилметоксикарбонила (см. 6.1.4), перемешивают содержимое на шейкере вортексного типа в течение 1—3 с, закрывают и устанавливают на нагревательный модуль системы упаривания растворителей при температуре 45 °С на 30 мин. Содержимое пробирки охлаждают до комнатной температуры, приливают 2 см^3 диэтилового эфира, перемешивают в шейкере вортексного типа в течение 1—3 с. Центрифугируют при 4750 об/мин$^{-1}$ в течение 5 мин при температуре 10 °С и убирают верхние 3 см^3 органического слоя с помощью компрессора. Экстракт упаривают до 1,5 см^3 в токе азота при температуре 45 °С, добавляют деионизированную воду до 3,5 см^3 и 0,01 см^3 соляной кислоты, перемешивают в шейкере вортексного типа в течение 1—3 с и центрифугируют при 4750 об/мин$^{-1}$ в течение 10 мин при температуре 10 °С.

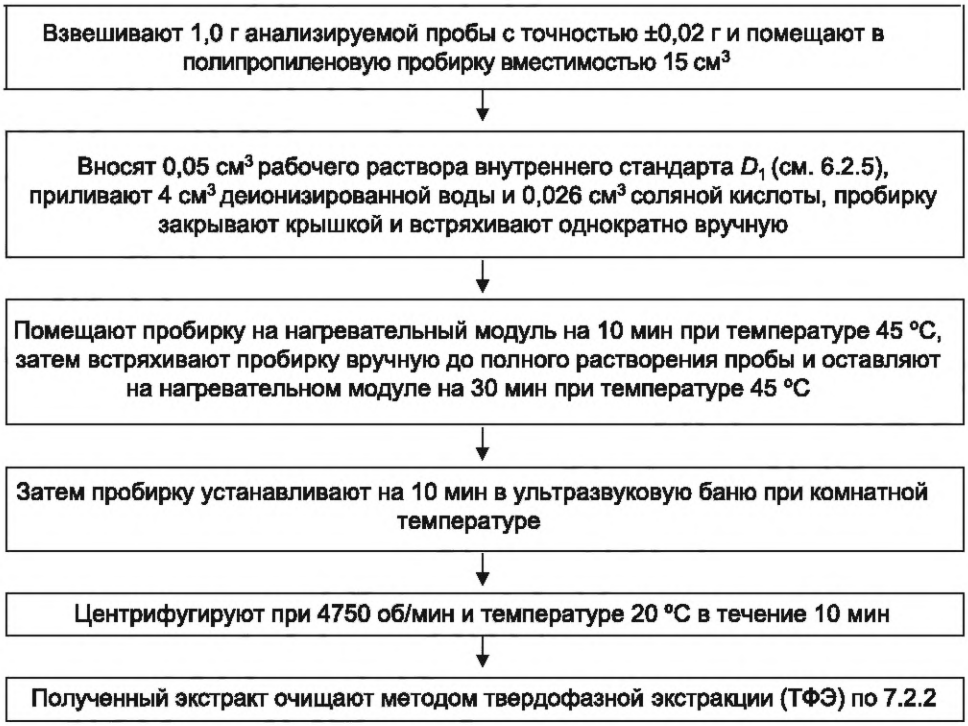

Рисунок 1 — Подготовка анализируемых проб

7.2.2.3 Активируют и уравновешивают картридж для твердофазной экстракции со смешанным слабым катионообменным и обращенно-фазовым сорбентом, пропуская последовательно 1,5 см^3 метанола, 1,5 см^3 5 %-ного раствора муравьиной кислоты (см. 6.1.5). Наносят на картридж весь полученный экстракт (см. 7.2.2.2) и позволяют протечь без применения вакуума. Картридж промывают 1,5 см^3 5 %-ного раствора муравьиной кислоты, 1,5 см^3 смеси воды, метанола, муравьиной кислоты (см. 6.1.9). После прохождения раствора, сорбент сушат в течение 1 мин при помощи компрессора. Элюируют определяемые вещества 3 см^3 смеси метанола, гидроксида аммония и воды (см. 6.1.6) в новую полипропиленовую пробирку вместимостью 15 см^3. Упаривают элюат до 0,5 см^3 в токе азота при температуре не более 45 °С. Остаток доводят до 1,0 см^3 смесью воды, метанола, уксусной кислоты (см. 6.1.7), перемешивают в шейкере вортексного типа в течение 3 с, фильтруют через одноразовые фильтр-насадки (либо центрифугируют при 4750 об/мин$^{-1}$ в течение 15 мин при температуре 10 °С), переносят в пробирки для автоматического устройства ввода проб вместимостью 2 см^3 и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

8 Проведение измерений

8.1 Условия хроматографического разделения

8.1.1 Хромато-масс-спектрометр включают в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают параметры рабочих режимов масс-спектрометрического детектирования и хроматографического разделения.

8.1.2 Например, для колонки длиной 100 мм, диаметром 1 мм, с обращенно-фазовым сорбентом с размером частиц не более 1,7 мкм соблюдают следующие условия хроматографического анализа:

- температура колонки — 30 °С;
- температура в отсеке устройства ввода проб — 20 °С;
- скорость потока подвижной фазы — 0,1 $см^3$/мин;
- объем вводимой пробы — 0,01 $см^3$.

Разделение проводят в режиме градиентного элюирования (приготовление подвижных фаз А и Б — по 6.1.8) в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 — Условия хроматографического разделения

Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза Б,%	Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза Б,%
0,0	90	10	8,0	5	95
1,0	80	20	8,1	90	10
6,0	5	95	14,0	90	10

8.1.3 Параметры настройки времяпролетного масс-спектрометрического детектора:

- температура источника — 350 °С;
- напряжение на капилляре — 1,0 кВ;
- напряжение в источнике — 400 В;
- зарядное напряжение — 300 В;
- давление азота в распылителе — 400 кПа;
- скорость газа осушения — 8 $дм^3$/мин;
- температура газа осушения — 200 °С;
- высокочастотное напряжение на воронке — 200 В;
- амплитуда напряжения — 200 В;
- амплитуда напряжения охладителя ионов — 40 В;
- время транспортировки ионов — 30 мкс;
- время накопления ионов — 10 мкс;
- скорость сканирования — 2 Гц;
- амплитуда напряжения ячейки соударений — 800 В.

8.1.4 Параметры работы времяпролетного масс-спектрометрического детектора в режиме MS/MS приведены в таблице 3.

Таблица 3

Наименование соединения	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы*, m/z	Время удерживания, мин	Энергия соударений, эВ
Глифосат-ФМОК	390,08	168,005/149,997/124,020	4,8	22
АМФК-ФМОК	332,08	110,000/135,981	5,6	22
Глюфосинат-ФМОК	402,12	180,044/206,024	5,2	22
Глифосат-2-^{13}C,^{15}N-ФМОК	392,08	170,0104	4,8	22

Примечание — Приведенные выше параметры хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования могут отличаться в зависимости от используемого оборудования.

8.1.5 Контроль чувствительности хромато-масс-спектрометра осуществляют введением 0,01 $см^3$ градуировочного раствора G_2 (см. 6.2.6) в инжектор хроматографа. Полученное соотношение сигнал/шум для каждого аналита должно быть не менее 20. Подвижную фазу, реагенты и матрицу проверяют на наличие глифосата, АМФК, глюфосината или других соединений, мешающих определению.

---

* При использовании масс-анализаторов с тройным квадруполем в целях количественного анализа рекомендуется использовать следующие дочерние ионы: глифосат-ФМОК — 150,2/124,2; АМФК-ФМОК — 136,2/110,2; глюфосинат-ФМОК — 206,2/180,2; глифосат-2-^{13}C,^{15}N-ФМОК — 152,2/126,2.

8.2 Установление градуировочной характеристики

8.2.1 Установление и расчет градуировочной характеристики проводят в каждой серии измерений с помощью программного обеспечения хромато-масс-спектрометра в автоматическом режиме, по наиболее интенсивному ион-продукту.

8.2.2 В инжектор хроматографа, последовательно вводят по 0,01 см^3 градуировочных растворов (см. 6.2.6) в порядке возрастания их концентраций. Относительные времена удерживания определяемых соединений приведены в таблице 3.

8.2.3 При установлении градуировочной характеристики, в координатах «отношение площади пика определяемого вещества к площади пика внутреннего стандарта этого вещества» — «массовая концентрация определяемого вещества в градуировочном растворе», используют линейную регрессию, при этом квадрат коэффициента корреляции должен быть не менее 0,98.

8.3 ВЭЖХ-ВПМС/МС измерение

8.3.1 В инжектор хроматографа вводят 0,01 см^3 пробы, подготовленной в соответствии с разделом 7. Проводят измерения в условиях, указанных в 8.1.

8.3.2 Определяют и регистрируют на хроматограмме время удерживания пиков ион-продуктов каждого аналита, соответствующее времени удерживания, найденному при измерении градуировочных растворов по 8.1.4.

8.3.3 При количественном определении глифосата, АМФК, глюфосината, вычисляют отношения площадей пиков ион-продуктов в анализируемой пробе и сравнивают их с отношениями площадей пиков ион-продуктов в градуировочных растворах, отклонения не должны превышать значений, указанных в таблице 4.

Таблица 4 — Допустимые отклонения сигналов ионных интенсивностей

Относительная ионная интенсивность, % от основного пика	Максимально допустимые отклонения для ВЭЖХ-ВПМС/МС детектирования, %
Св. 50	±20
Св. 20 до 50 включ.	±25
Св. 10 до 20 включ.	±30
Менее 10	±50

9 Метрологические характеристики

Установленный в настоящем стандарте метод обеспечивает выполнение измерений содержания глифосата, АМФК, глюфосината с расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений при коэффициенте охвата k = 2 и доверительной вероятности P = 0,95, указанной в таблице 5.

Таблица 5 — Показатели точности метода при проведении измерений содержания глифосата, АМФК, глюфосината

Аналит	Диапазон измерений содержания аналита, мг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i при коэффициенте охвата k = 2, %	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости (допускаемое расхождение для двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости) r, %	Предел воспроизводимости (допускаемое расхождение для двух результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости) R, %
Глифосат	От 0,05 до 0,2 включ.	53	13	24	36	66
	Св. 0,2 до 2,0 включ.	21	7	11	19	30

Окончание таблицы 5

Аналит	Диапазон измерений содержания аналита, мг/кг	Значение относительной расширенной неопределенности U_i при коэффициенте охвата $k = 2$, %	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости (допускаемое расхождение для двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости) r, %	Предел воспроизводимости (допускаемое расхождение для двух результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости) R, %
АМФК	От 0,1 до 2,0 включ.	43	14	21	39	58
Глюфосинат	От 0,5 до 2,0 включ.	44	15	22	42	61
	Св. 2,0 до 20,0 включ.	30	9	14	25	39

10 Обработка результатов измерений

10.1 Используя данные, полученные при анализе проб совместно с матричными градуировочными растворами, проводят обработку хроматограмм с помощью программного обеспечения, получая значения концентрации аналитов в анализируемой пробе.

10.2 За окончательный результат измерений содержания глифосата, АМФК, глюфосината принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, для которых выполняется условие

$$|X_1 - X_2| \le 0{,}01 \cdot r \cdot \overline{X}, \quad (2)$$

где X_1 и X_2 — результаты двух измерений определяемого аналита, полученных в условиях повторяемости, мг/кг;

r — допускаемое расхождение для двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, %, приведенное в таблице 5;

$\overline{X}$ — среднеарифметическое значение двух результатов измерений определяемого показателя, мг/кг.

10.3 При невыполнении условия (2) получают дополнительно еще один результат измерений. За результат измерений принимают среднеарифметическое значение трех результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, для которых выполняется условие

$$X_{max} - X_{min} \le 0{,}01 \cdot 3{,}3 \cdot \sigma_r \frac{X_1 + X_2 + X_3}{3}, \quad (3)$$

где X_{max} и X_{min} — максимальное и минимальное значение из трех результатов измерения определяемого аналита, мг/кг;

σ_r — значение относительного среднеквадратического отклонения повторяемости, %, приведенное в таблице 5.

10.4 При невыполнении условия (3) за окончательный результат измерений принимают медиану трех результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений). Дополнительно выявляют и устраняют причины, приводящие к невыполнению условия (2).

10.5 Конечный результат округляют до второго десятичного знака.

11 Оформление результатов измерений

Содержание i-го аналита, мг/кг, представляют в виде

$$\overline{X}_i \pm 0{,}01 \cdot U_i \cdot \overline{X}_i \text{ при } k = 2, \quad (4)$$

где $\overline{X}_i$ — среднеарифметическое значение вычислений двух параллельных измерений содержания i-го аналита в анализируемой пробе, мг/кг, удовлетворяющих условию (2) и (3);

U_i — значение относительной расширенной неопределенности содержания i-го аналита для соответствующего диапазона измерений, % (в соответствии с таблицей 5);

0,01 — коэффициент перевода значения относительной расширенной неопределенности в значение расширенной неопределенности в абсолютных единицах.

12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

12.1 Расхождение между результатами измерений, полученными в разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости

$$|X_1 - X_2| \le 0{,}01 \cdot R \frac{X_1 + X_2}{2}, \quad (5)$$

где X_1 и X_2 — результаты измерений определяемого аналита, полученные в разных лабораториях;

R — предел воспроизводимости, выраженный в относительных единицах. Значения предела воспроизводимости приведены в таблице 5.

12.2 При выполнении условия (5) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их среднеарифметическое значение.

13 Контроль качества результатов измерений

13.1 Контроль качества результатов измерений предусматривает:

- оперативный контроль процедуры измерений с использованием контрольной процедуры для контроля точности с применением образцов для контроля;
- контроль стабильности результатов измерений проводят с использованием контрольных карт Шухарта для контроля погрешности с применением образцов для контроля.

Периодичность получения результатов контрольных процедур и формы их регистрации приводят в документах лаборатории, устанавливающих порядок и содержание работ по организации методов контроля стабильности результатов измерений в пределах лаборатории.

13.2 Оперативный контроль процедуры измерений

13.2.1 Оперативный контроль процедуры измерений проводит непосредственно исполнитель измерений на основе оценки отдельно взятой контрольной процедуры (K_k) и сравнения результата процедуры с нормативом контроля (K).

13.2.2 Оперативный контроль процедуры измерений проводят по следующей схеме:

- проведение контрольного измерения и получение результата контрольной процедуры;
- расчет результата контрольной процедуры (K_k);
- расчет норматива контроля (K).

Реализация решающего правила контроля — сопоставление результата контрольной процедуры с нормативом контроля и выводы по результатам контроля.

13.2.3 Оперативный контроль процедуры измерений может быть проведен с применением метода добавок по 13.3.

Применение метода добавок используют при наличии условий для создания проб с введенными добавками, адекватных анализируемым пробам и при отсутствии образцов для контроля.

При организации контроля исполнитель анализа в соответствии с выбранным алгоритмом проведения контрольной процедуры анализа выбирает (при необходимости готовит) средства контроля.

Результаты контрольных измерений, полученные при оперативном контроле процедуры анализа, проводимом с каждой серией рабочих проб, могут быть использованы при реализации любой из форм контроля стабильности результатов анализа.

13.3 Оперативный контроль процедуры измерений с применением метода добавок

13.3.1 Средствами контроля являются:

- пробы, исследуемые по методу (рабочие пробы);
- пробы, исследуемые по методу с известной добавкой определяемого компонента (рабочие пробы с добавкой).

Рабочие пробы для проведения оперативного контроля выбирают таким образом, чтобы массовая концентрация аналита в пробе с добавкой не превышала верхней границы диапазона измерений. Анализируемую пробу делят на две равные части. Одну часть оставляют без изменения, во вторую делают добавку аналита $C_д$.

13.3.2 В условиях повторяемости получают результаты контрольных измерений содержания аналита в рабочей пробе — X_n и в рабочей пробе с внесенной известной добавкой аналита — $X_{n+д}$.

13.3.3 Результат контрольной процедуры K_k, мг/кг, вычисляют по формуле

$$K_k = X_{n+д} - X_n - C_д, \quad (6)$$

где $X_{n+д}$ — содержание аналита в рабочей пробе с внесенной известной добавкой аналита, мг/кг;

X_n — содержание аналита в рабочей пробе, мг/кг;

$C_д$ — массовая концентрация введенной добавки, мг/кг.

13.3.4 Норматив контроля K, мг/кг, вычисляют по формуле

$$K = \sqrt{U^2_{ПX_{n+д}} + U^2_{ПX_n}}, \quad (7)$$

где $U_{ПX_{n+д}}$ — характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая содержанию определяемого аналита в пробе с добавкой, вычисляемая по формуле

$$U_{ПX_{n+д}} = 0{,}01 \cdot U_i \cdot X_{n+д}, \quad (8)$$

$U_{ПXn}$ — характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая содержанию определяемого аналита в пробе, вычисляемая по формуле

$$U_{ПX_n} = 0{,}01 \cdot U_i \cdot X_n, \quad (9)$$

U_i — значение относительной расширенной неопределенности содержания i-го аналита для соответствующего диапазона измерений, % (в соответствии с таблицей 5).

13.3.5 При сопоставлении результата контрольной процедуры с нормативом контроля должно выполняться условие

$$|K_k| \le K. \quad (10)$$

При невыполнении этого условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (10) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительному результату, и принимают меры к их устранению.

Примечание — Если в рабочей пробе установлено отсутствие определяемого аналита на уровне нижней границы диапазона измерений, то эта рабочая проба с введенной добавкой $C_д$ может служить образцом для контроля с опорным значением $C_д$. В этом случае результат контрольной процедуры K_k, мг/кг, вычисляют по формуле

$$K_k = X - C_д, \quad (11)$$

где X — результат контрольного измерения аналита в образце для контроля;

$C_д$ — массовая концентрация введенной добавки, мг/кг.

УДК 638.162:006.354 МКС 67.180.10

Ключевые слова: мед, глифосат, АМФК, глюфосинат, метод определения содержания с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором

Редактор *Д.А. Кожемяк*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 24.02.2022. Подписано в печать 09.03.2022. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «РСТ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ 34821—2021 Мед натуральный. Определение содержания глюфосината, глифосата и его метаболита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 9 2022 г.)

gost.e-ecolog.ru