Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3522—17

Издание официальное

Москва • 2018

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3522—17

ББК 51.21
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—31 с.

ISBN 978–5–7508–1648–4

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (А. В. Довгилевич, Е. В. Довгилевич, Е. Н. Тестова, Р. А. Стрелецкий).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 24 ноября 2017 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 29 декабря 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

ISBN 978–5–7508–1648–4

© Роспотребнадзор, 2018

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
29 декабря 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

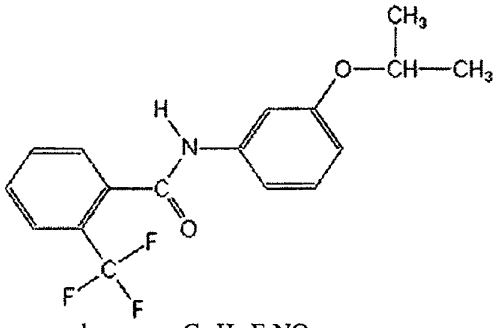
Методические указания
МУК 4.1.3522—17

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для определения массовых концентраций флутоланила и его метаболитов, содержащих 2-трифторметилбензойные кислотные группы (М-2, М-4, М-101 и М-102) в воде в диапазоне 0,001—0,010 мг/дм^3 и в почве в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг, а также уровня их остаточных количеств в клубнях картофеля в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг. Методические указания носят рекомендательный характер.

Флутоланил

α, α, α-трифтор-3'-изопропокси-орто-толуанилид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{16}F_3NO_2$.

Молекулярная масса: 323,34.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: белого цвета.

Давление паров: $4,1 \times 10^{-4}$ МПа (25 °С).

Коэффициент распределения октанол/вода (при pH 7, 20 °С): K_{ow} logP = 3,17.

Температура плавления: 104,6 °С.

Растворимость в воде (мг/дм^3, 20 °С): 8,01.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 20 °С): ацетон – 606; этилацетат – 365; метанол – 322; толуол – 35.

Гидролитически стабилен при pH от 5 до 9.

Устойчив в почве, $ДТ_{50}$: 233 дня.

Краткая токсикологическая характеристика. Флутоланил относится к мало опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 10 000 мг/кг) и по дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг массы тела) и к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 часа) более 5 980 мг/м^3). Не раздражает слизистую глаз и кожу кроликов.

Область применения. Флутоланил – фунгицид из класса оксатиинов системного действия. Ингибирует комплекс сукцинатдегидрогеназы базидиомицетов. Сукцинатдегидрогеназа представляет собой белковый комплекс, который является составной частью внутренней митохондриальной мембраны и ключевым элементом в цепи переноса электронов млекопитающих.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ВДСД – 0,09 мг/кг массы тела человека.

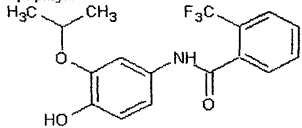
ВМДУ для импортируемой продукции (мг/кг): рис – 2,0; картофель – 0,1.

Метаболиты флутоланила.

М-2

α, α, α-трифтор-4'-гидрокси-3'-изопропокси-орто-толуанилид.

Структурная формула:



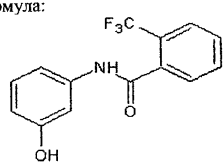
Эмпирическая формула: $C_{17}H_{16}F_3NO_3$.

Молекулярная масса: 339,31.

М-4

α, α, α-трифтор-3'-гидрокси-орто-толуанилид.

Структурная формула:



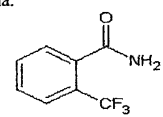
Эмпирическая формула: $C_{14}H_{10}F_3NO_2$.

Молекулярная масса: 281,23.

М-101

2-(трифторметил)бензамид.

Структурная формула:



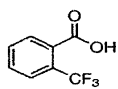
Эмпирическая формула: $C_8H_6F_3NO$.

Молекулярная масса: 189,13.

М-102

2-(трифторметил)бензойная кислота.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_8H_5F_3O_2$.
Молекулярная масса: 190,12.
ВМДУ в импортируемой продукции (мг/кг): рис – 2,0; картофель – 0,1.

1. Погрешность измерений

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм^3)	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
1	2	3	4	5	6
Флутоланил					
Вода	0,001—0,010 вкл.	40	7	20	28
Почва	0,01—0,10 вкл.	50	3	9	13
Клубни картофеля	0,01—0,10 вкл.	50	5	14	19
М-2					
Вода	0,001—0,010 вкл.	40	5	15	21
Почва	0,01—0,10 вкл.	50	3	8	12
Клубни картофеля	0,01—0,10 вкл.	50	4	10	14
М-4					
Вода	0,001—0,010 вкл.	40	3	7	10
Почва	0,01—0,10 вкл.	50	3	9	13
Клубни картофеля	0,01—0,10 вкл.	50	6	17	24
М-101					
Вода	0,001—0,010 вкл.	40	7	19	27
Почва	0,01—0,10 вкл.	50	3	9	13

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
Клубни картофеля	0,01—0,10 вкл.	50	3	9	13
М-102					
Вода	0,001—0,010 вкл.	40	2	6	8
Почва	0,01—0,10 вкл.	50	2	4	6
Клубни картофеля	0,01—0,10 вкл.	50	3	8	11

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг ($мг/дм^3$)	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Флутоланил					
Вода	0,001	0,001—0,010	91,2	7,1	3,0
Почва	0,01	0,01—0,10	91,5	7,7	3,3
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,10	95,4	4,3	1,9
М-2					
Вода	0,001	0,001—0,010	87,1	7,9	3,2
Почва	0,01	0,01—0,10	88,3	6,0	2,5
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,10	91,6	3,2	1,4
М-4					
Вода	0,001	0,001—0,010	93,8	4,5	2,0
Почва	0,01	0,01—0,10	90,0	6,2	2,6
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,10	93,7	4,4	1,9
М-101					
Вода	0,001	0,001—0,010	75,6	4,4	1,6
Почва	0,01	0,01—0,10	100,3	6,8	3,2
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,10	94,9	4,8	2,1
М-102					
Вода	0,001	0,001—0,010	76,0	4,0	1,4
Почва	0,01	0,01—0,10	76,6	4,5	1,6
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,10	83,4	4,8	1,9

2. Метод измерений

Метод основан на определении флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием тандемного масс-спектрометрического детектора (ВЭЖХ-МС-МС).

Определение флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 *в воде* проводится после их экстракции хлористым метиленом из подкисленного образца воды.

Определение флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101 *в почве* проводится после их экстракции подкисленным ацетонитрилом и дальнейшего концентрирования и разбавления полученного экстракта.

Определение метаболита флутоланила М-102 в почве проводится после его экстракции подкисленным ацетонитрилом и дальнейшей очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами.

Определение флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 *в клубнях картофеля* проводится после их экстракции подкисленным ацетонитрилом и дальнейшего концентрирования и разбавления полученного экстракта.

Идентификация флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 проводится по времени удерживания, наличию характеристических ионов в масс-спектрах хроматографически выделенных веществ и соотношению интенсивностей (площадей) пиков, отвечающих характеристическим ионам идентифицируемых компонентов и аналитических стандартов на регистрируемых ионных масс-хроматограммах. Концентрацию флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 определяют по площадям соответствующих хроматографических пиков на ионных масс-хроматограммах по методу абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность метода достигается за счет использования масс-спектрометрического детектора, регистрирующего одновременно несколько специфичных дочерних ионов, характеризующих вещество.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I) с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08

Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 400 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
pH-метр/милливольтметр с диапазоном измерения 0—14 pH; ± 1 999 мВ	
Система высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектором, включающая: – модульный жидкостный хроматограф, состоящий из градиентного насоса на два растворителя, позволяющий регулировать поток элюента от 0,001 до 5,0 $см^3$/мин и создавать давление от 0 до 600 бар; вакуумного дегазатора; термостата колонок с двумя независимо нагреваемыми зонами с диапазоном температур от 10 до 80 °С; автоматического дозатора проб с использованием виал на 2 $см^3$. ВЭЖХ-система соединена с тандемным масс-спектрометрическим детектором типа тройная квадруполь с источником ионизации типа электроспрей и оснащенным двумя высокопроизводительными турбомолекулярными насосами, позволяющим регистрировать отдельные ионы с заданными массами от 5 до 3 000 а.е.м. – компьютерную систему обработки данных, контролирующую работу всего прибора, обеспечивающую сбор и хранение всех масс-хроматограмм в процессе проведения хромато-масс-спектрометрического анализа, обеспечивающую обработку результатов измерений, вывод и расчет масс-хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Примечание. Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Флутоланил, CAS 66332-96-5, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,6 %	
М-2, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,8 %	
М-4, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 100,0 %	
М-101, CAS 360-64-5, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 100,0 %	
М-102, CAS 433-97-6, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,8 %	
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гидроксид аммония, не менее 25 % по аммиаку, (аммиак водный), чда	ГОСТ 3760—79
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота муравьиная, чда	ГОСТ 5848—73
Кислота соляная, хч	ГОСТ 3118—77
Метилен хлористый, хч	ТУ 2631-019-44493179—98
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81

Виалы объемом 2 $см^3$, закрываемые завинчивающейся или запрессовывающейся крышкой с тефлонированной резиновой прокладкой, прокалываемой микрошприцем для автоматического дозатора проб	
Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$	
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная длиной 100 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 3,5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 % с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс., с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин	
Предколонка хроматографическая стальная длиной 12,5 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18	
Стаканы стеклянные термостойкие объемом 100—500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и	

приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ 6-09-1678—95
Центрифуга лабораторная настольная с максимальным рабочим числом оборотов 4 000 об./мин, с рабочим объемом ротора 200 $см^3$ × 4 ячейки, выбираемый временной диапазон работы от 0 до 100 минут и с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$	
Шарики из углеродистой стали для экстракции диаметром 8 мм	

Примечание. Допускается применение оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на комплекс жидкостного хроматографа с масс-спектрометрическим детектором.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—91.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы на жидкостном хроматографе с масс-спектрометрическим детектором, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

– процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;

– выполнение измерений на жидкостном хроматографе с масс-спектрометрическим детектором проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочных характеристик.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 часов.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.1.3. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5%-го раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 часов. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Хлористый

метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. *Приготовление 5%-го раствора гидрокарбоната натрия*

В мерную колбу на 1 000 $см^3$ переносят 50 г гидрокарбоната натрия, добавляют 200—300 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.1.2. *Приготовление подкисленного ацетонитрила для экстракции*

В мерную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ ацетонитрила, прибавляют 10,0 $см^3$ муравьиной кислоты, перемешивают, объем доводят до метки ацетонитрилом.

7.2.1.3. *Приготовление 0,1%-го водного раствора муравьиной кислоты*

В мерную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ бидистиллированной воды, прибавляют 1,0 $см^3$ муравьиной кислоты, перемешивают, объем доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор используется как компонент подвижной фазы.

7.2.1.4. *Приготовление 0,1%-го раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле*

В мерную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ ацетонитрила, прибавляют 1,0 $см^3$ муравьиной кислоты, перемешивают, объем доводят до метки ацетонитрилом. Раствор используется как компонент подвижной фазы.

7.2.1.5. *Приготовление 10 мМ водного раствора гидроксида аммония (по аммиаку)*

В мерную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ бидистиллированной воды, прибавляют 0,75 $см^3$ 25%-го раствора гидроксида аммония, перемешивают, объем доводят до метки бидистиллированной водой. Раствор используется как компонент подвижной фазы.

7.2.1.6. *Приготовление 10 мМ раствора гидроксида аммония в ацетонитриле*

В мерную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ ацетонитрила, прибавляют 0,75 $см^3$ 25%-го раствора гидроксида аммония, перемешивают, объем доводят до метки ацетонитрилом. Раствор используется как компонент подвижной фазы.

7.2.1.7. *Приготовление 6 М раствора соляной кислоты*

Мерным цилиндром отбирают 246 $см^3$ концентрированной соляной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 500 $см^3$, куда

предварительно наливают около 100 см^3 дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. *Стандартный раствор № 1 с концентрацией флутоланила 1,0 мг/см^3*

Взвешивают 10 мг флутоланила в мерной колбе объемом 10 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.2. *Стандартный раствор № 2 с концентрацией М-2 1,0 мг/см^3*

Взвешивают 10 мг М-2 в мерной колбе объемом 10 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.3. *Стандартный раствор № 3 с концентрацией М-4 1,0 мг/см^3*

Взвешивают 10 мг М-4 в мерной колбе объемом 10 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.4. *Стандартный раствор № 4 с концентрацией М-101 1,0 мг/см^3*

Взвешивают 10 мг М-101 в мерной колбе объемом 10 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 4 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 4 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.5. *Стандартный раствор № 5 с концентрацией М-102 1,0 мг/см^3*

Взвешивают 10 мг М-102 в мерной колбе объемом 10 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 5 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и уста-

новления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 5 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.6. *Стандартный раствор № 6 с концентрацией флутоланила, М-2, М-4, М-101 и М-102 по 10,0 мкг/см^3*

Из стандартных растворов № 1, 2, 3, 4 и 5 отбирают пипеткой по 1 см^3 каждого раствора и помещают в мерную колбу объемом 100 см^3. Доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 6 используется для приготовления стандартных растворов для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 6 хранят в холодильнике не более 2 месяцев.

7.2.2.7. *Стандартные растворы флутоланила, М-2, М-4, М-101 и М-102 с концентрацией по 2,0; 1,0; 0,4; 0,2 и 0,1 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы*

Методом последовательного разведения ацетонитрилом стандартного раствора № 6 готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,4; 0,2 и 0,1 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы.

7.2.2.8. *Стандартный раствор № 7 с концентрацией флутоланила, М-2, М-4 и М-101 по 10,0 мкг/см^3*

Из стандартных растворов № 1, 2, 3 и 4 отбирают пипеткой по 1 см^3 каждого раствора и помещают в мерную колбу объемом 100 см^3. Доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 7 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 7 хранят в холодильнике не более 2 месяцев.

7.2.2.9. *Стандартный раствор № 8 с концентрацией М-102 10.0 мкг/см^3*

Из стандартного раствора № 5 отбирают пипеткой 1 см^3 раствора и помещают в мерную колбу объемом 100 см^3. Доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 8 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 8 хранят в холодильнике не более 2 месяцев.

7.2.2.10. *Стандартные растворы флутоланила, М-2, М-4 и М-101 с концентрацией по 0,025; 0,01; 0,005 и 0,002 мкг/см^3*

Методом последовательного разведения ацетонитрилом стандартного раствора № 7 готовят растворы, содержащие по 0,025; 0,01; 0,005 и 0,002 мкг/см^3 и используют эти растворы для установления градуировочной зависимости для определения флутоланила и его метаболитов

М-2, М-4 и М-101 в воде. Стандартные растворы хранят в холодильнике не более 2 месяцев.

7.2.2.11. *Стандартные растворы флутоланила, М-2, М-4 и М-101 с концентрацией по 0,025; 0,01; 0,007 и 0,002 мкг/см^3*

Методом последовательного разведения стандартного раствора № 7 готовят растворы, содержащие по 0,025; 0,01; 0,007 и 0,002 мкг/см^3 и используют эти растворы для установления градуировочной зависимости для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101 в почве. Стандартные растворы готовятся на основе матрицы, т. е. в качестве растворителя используется очищенный экстракт контрольного образца почвы, подготовленный по п. 9.2. Стандартные растворы хранят в холодильнике не более 7 дней.

7.2.2.12. *Стандартные растворы флутоланила, М-2, М-4 и М-101 с концентрацией по 0,025; 0,015; 0,005 и 0,002 мкг/см^3*

Методом последовательного разведения стандартного раствора № 7 готовят растворы, содержащие по 0,025; 0,015; 0,005 и 0,002 мкг/см^3 и используют эти растворы для установления градуировочной зависимости для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101 в клубнях картофеля. Стандартные растворы готовятся на основе матрицы, т. е. в качестве растворителя используется очищенный экстракт контрольного образца клубней картофеля, подготовленный по п. 9.3. Стандартные растворы хранят в холодильнике не более 7 дней.

7.2.2.13. *Стандартные растворы М-102 с концентрацией 0,25; 0,1; 0,05 и 0,02 мкг/см^3*

Методом последовательного разведения ацетонитрилом стандартного раствора № 8 готовят растворы, содержащие по 0,25; 0,1; 0,05 и 0,02 мкг/см^3 и используют эти растворы для установления градуировочной зависимости для определения М-102 в воде и почве. Стандартные растворы хранят в холодильнике не более 2 месяцев.

7.2.2.14. *Стандартные растворы М-102 с концентрацией 0,025; 0,015; 0,005 и 0,002 мкг/см^3*

Методом последовательного разведения стандартного раствора № 8 готовят растворы, содержащие по 0,025; 0,015; 0,005 и 0,002 мкг/см^3 и используют эти растворы для установления градуировочной зависимости для определения М-102 в клубнях картофеля. Стандартные растворы готовятся на основе матрицы, т. е. в качестве растворителя используется очищенный экстракт контрольного образца клубней картофеля, подготовленный по п. 9.3. Стандартные растворы хранят в холодильнике не более 7 дней.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочные характеристики, выражающие отклик целевых ионов от концентрации флутоланила и его метаболитов в растворе (мкг/см^3), устанавливают путем определения соотношения интенсивности (площади) пиков, отвечающих характеристичным ионам идентифицируемого компонента и аналитического стандарта на регистрируемых ионных масс-хроматограммах по 4 растворам для установления градуировочной характеристики.

Градуировочную зависимость для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101 в воде устанавливают по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,025; 0,01; 0,005 и 0,002 мкг/см^3 каждого компонента, приготовленным согласно п. 7.2.2.10.

Градуировочную зависимость для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101 в почве устанавливают по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,025; 0,01; 0,007 и 0,002 мкг/см^3 каждого компонента, приготовленным согласно п. 7.2.2.11.

Градуировочную зависимость для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101 в клубнях картофеля устанавливают по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,025; 0,015; 0,005 и 0,002 мкг/см^3 каждого компонента, приготовленным согласно п. 7.2.2.12.

Градуировочную зависимость для определения М-102 в воде и почве устанавливают по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,25; 0,1; 0,05 и 0,02 мкг/см^3, приготовленным согласно п. 7.2.2.13.

Градуировочную зависимость для определения М-102 в клубнях картофеля устанавливают по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,025; 0,015; 0,005 и 0,002 мкг/см^3, приготовленным согласно п. 7.2.2.14.

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм^3 (при определении флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101) или 10 мм^3 (при определении М-102) каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку с предколонкой устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 40 °С 3—4 часа.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб проводится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» № 2051—79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТ 31861—12 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 17.4.3.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб», ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. Технические условия», ГОСТ Р 51808—13 «Картофель продовольственный. Технические условия», ГОСТ 26832—86 «Картофель свежий для переработки на продукты питания. ТУ».

Пробы воды хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 10 суток.

Для длительного хранения пробы почвы подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в темной таре в течение года. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

Пробы клубней картофеля хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С не более 3 лет.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

9.1.1. Экстракция

Пробу воды объемом 100 $см^3$ помещают в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Добавляют 15 г хлорида натрия и растворяют его путем встряхивания. Подкисляют водную фазу 6 М соляной кислотой до значения pH 2.

Флутоланил и его метаболиты экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 $см^3$ каждая, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С.

Сухой остаток растворяют в 4 $см^3$ ацетонитрила, пробу переносят в виалу объемом 2 $см^3$ для автоматического дозатора проб и 5 $мм^3$ (при определении флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101) или 10 $мм^3$ (при определении М-102) пробы вводят в хроматограф.

9.2. Почва

9.2.1. Экстракция

При экстракции в каждую банку с пробой и растворителем помещается по 5 шариков для экстракции, которые перед центрифугированием удаляются.

Образец почвы массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ подкисленного ацетонитрила (п. 7.2.1.2) и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 15 минут на аппарат для встряхивания проб. Затем пробу центрифугируют в течение 5 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Супернатант фильтруют через бумажный фильтр низкой плотности в мерный цилиндр объемом 100 $см^3$. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 20 $см^3$ подкисленного ацетонитрила и помещая пробы на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 15 минут на аппарат для встряхивания проб. Пробы центрифугируют в течение 5 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Экстракты фильтруют, объединяют в мерном цилиндре объемом 100 $см^3$. Объем экстракта в цилиндре доводят до метки 100 $см^3$ подкисленным ацетонитрилом.

9.2.2. Подготовка экстракта для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101

Из объединенного экстракта, подготовленного по п. 9.2.1, берут аликвоту 12,5 $см^3$ ($^1/_8$ часть), переносят ее в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают до объема менее 5 $см^3$ на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С.

Сконцентрированный экстракт из концентратора переносят в мерный цилиндр объемом 10 $см^3$. Исходную колбу обмывают порцией ацетонитрила, необходимой для получения общего объема экстракта 5 $см^3$ (5 $см^3$ минус объем экстракта, перенесенного в цилиндр), помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну и объединяют экстракт с предыдущим в мерном цилиндре объемом 10 $см^3$. К ацетонитрильному экстракту в цилиндре добавляют 5 мл 0,1%-го водного раствора муравьиной кислоты.

Пробу переносят в виалу объемом 2 $см^3$ для автоматического дозатора проб и 5 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.2.3. Подготовка экстракта для определения метаболита флутоланила М-102

Из объединенного экстракта, подготовленного по п. 9.2.1, берут аликвоту 50 $см^3$ ($^1/_2$ часть), переносят ее в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают до водного остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С.

9.2.4. Очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К водному остатку, полученному по п. 9.2.3, добавляют 20 $см^3$ дистиллированной воды, обмывают стенки концентратора и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Добавляют в делительную воронку 5 г хлорида натрия, растворяя его путем встряхивания.

Метаболит флутоланила М-102 экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 10 $см^3$ каждая, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С.

Сухой остаток растворяют в 4 $см^3$ ацетонитрила, пробу переносят в виалу объемом 2 $см^3$ для автоматического дозатора проб и 10 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Клубни картофеля

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ подкисленного ацетонитрила (п. 7.2.1.2) и помещают на 30 минут на аппарат для встряхивания проб. Затем пробу центрифугируют в течение 10 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр низкой плотности в мерный цилиндр объемом 100 $см^3$. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 20 $см^3$ подкисленного ацетонитрила и помещая пробы на 30 минут на аппарат для встряхивания проб. Пробы центрифугируют в течение 10 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Экстракты фильтруют, объединяют в мерном цилиндре объемом 100 $см^3$. Объем экстракта в цилиндре доводят до метки 100 $см^3$ подкисленным ацетонитрилом.

9.3.2. Подготовка экстракта для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102

Из объединенного экстракта, подготовленного по п. 9.3.1, берут аликвоту 12,5 $см^3$ ($^1/_8$ часть), переносят ее в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают до объема менее 5 $см^3$ на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С.

Сконцентрированный экстракт из концентратора переносят в мерный цилиндр объемом 10 $см^3$. Исходную колбу обмывают порцией ацетонитрила, необходимой для получения общего объема экстракта 5 $см^3$ (5 $см^3$ минус объем экстракта, перенесенного в цилиндр), помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну и объединяют экстракт с предыдущим в мерном цилиндре объемом 10 $см^3$. К ацетонитрильному экстракту в цилиндре добавляют 5 мл 0,1%-го водного раствора муравьиной кислоты.

Пробу переносят в виалу объемом 2 $см^3$ для автоматического дозатора проб и 5 $мм^3$ (при определении флутоланила и его метаболитов М-2, М-4 и М-101) или 10 $мм^3$ (при определении М-102) пробы вводят в хроматограф.

9.4. Условия хроматографирования и масс-спектрометрирования

Система высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектором, включающая:

– модульный жидкостный хроматограф, состоящий из: градиентного насоса на два растворителя, позволяющий регулировать поток элюента от 0,001 до 5,0 $см^3$/мин и создавать давление от 0 до 600 бар; вакуумного дегазатора; термостата колонок с двумя независимо нагреваемыми зонами с диапазоном температур от 10 до 80 °С; автоматического дозатора проб с использованием виал на 2 $см^3$. ВЭЖХ-система соединена с тандемным масс-спектрометрическим детектором типа тройная квадруполь с источником ионизации типа электроспрей и оснащенным двумя высокопроизводительными турбомолекулярными насосами, позволяющим регистрировать отдельные ионы с заданными массами от 5 до 3 000 а.е.м.

– компьютерную систему обработки данных, контролирующую работу всего прибора, обеспечивающую сбор и хранение всех масс-хроматограмм в процессе проведения хромато-масс-спектрометрического анализа, обеспечивающую обработку результатов измерений, вывод и расчет масс-хроматограмм и количественный анализ.

9.4.1. Определение флутоланила и его метаболитов М-4, М-2 и М-101 в воде, почве и клубнях картофеля

Режим хроматографа

Колонка хроматографическая стальная длиной 100 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 3,5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Предколонка хроматографическая стальная длиной 12,5 мм, с внутренним диаметром 2,1 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Температура колонки: 40 °С.

Подвижная фаза: 0,1%-й водный раствор муравьиной кислоты – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (%, по объему) в градиентном режиме. Градиент потока элюента: 0 мин – 50 : 50, скорость потока элюента – 0,3 $см^3$/мин; с 1-й по 10-ю мин – 0 : 100, скорость потока элюента – 0,3 $см^3$/мин; с 10,5-й до 12,5-й мин – 0 : 100, скорость потока элюента – 1 $см^3$/мин; 13-я мин – 50 : 50, скорость потока элюента – 0,3 $см^3$/мин.

Время стабилизации хроматографической системы после анализа пробы: 7 мин (общее время анализа 20 мин).

Объем вводимой пробы: 5 $мм^3$.

Режим масс-спектрометра

Время подачи элюента во время анализа: 3—10 минут.

Газ-осушитель – азот с температурой 320 °С, расход 10 $м^3$/мин.

Расход газа периферийного слоя: 11 $м^3$/мин с температурой 400 °С.

Давление в распылителе: 30 psi.

Напряжение ионизации: 3 500 В.

Источник ионов: электроспрей.

Режим ионизации: положительный.

Режим сканирования: мониторинг множественных реакций (MRM).

Детектируемые переходы:

Флутоланил: 324,1→262,1 – количественный переход, энергия соударения – 15 В; 324,1→242,2 – качественный переход, энергия соударения – 25 В. Энергия фрагментации: 90 В, время сканирования: 50 мс, напряжение на ускорителе ячейки: 5 В.

М-2: 340,1→258,1 – переход количественного определения, энергия соударения – 25 В; 340,1→278,2 – качественный переход, энергия соударения – 20 В. Энергия фрагментации: 100 В, время сканирования: 50 мс, напряжение на ускорителе ячейки: 5 В.

М-4: 282,1→262,1 – переход количественного определения, энергия соударения – 10 В; 282,1→242,2 – качественный переход, энергия

соударения – 15 В. Энергия фрагментации: 90 В, время сканирования: 50 мс, напряжение на ускорителе ячейки: 5 В.

М-101: 190,1→102,2 – переход количественного определения, энергия соударения – 30 В, напряжение на ускорителе ячейки – 5 В; 190,1→170,1 – качественный переход, энергия соударения – 10 В, напряжение на ускорителе ячейки – 7 В. Энергия фрагментации: 90 В, время сканирования: 50 мс.

9.4.2. Определение метаболита флутоланила М-102 в воде и почве

Режим хроматографа

Предколонка хроматографическая стальная длиной 12,5 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Температура колонки: 40 °С.

Подвижная фаза: 0,1%-й водный раствор муравьиной кислоты–0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле в изократическом режиме 30 : 70 (% по объему).

Скорость потока элюента: 0,3 $см^3$/мин.

Общее время анализа: 5 мин.

Объем вводимой пробы: 10 $мм^3$.

Режим масс-спектрометра

Время подачи элюента во время анализа: непрерывно.

Газ-осушитель: азот с температурой 320 °С, расход 10 $м^3$/мин.

Расход газа периферийного слоя: 11 $м^3$/мин с температурой 400 °С.

Давление в распылителе: 30 psi.

Напряжение ионизации: 3 500 В.

Источник ионов: электроспрей.

Режим ионизации: отрицательный.

Режим сканирования: мониторинг множественных реакций (MRM).

Детектируемые переходы:

– 188,9→145,1 – переход количественного определения, время сканирования 50 мс, энергия фрагментации: 80 В, энергия соударения: 10 В, напряжение на ускорителе ячейки: 7 В;

– 188,9→68,9 – качественный переход, время сканирования: 50 мс, энергия фрагментации: 70 В, энергия соударения: 40 В, напряжение на ускорителе ячейки: 7 В.

9.4.3. Определение метаболита флутоланила М-102 в клубнях картофеля

Режим хроматографа

Колонка хроматографическая стальная длиной 100 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 3,5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Предколонка хроматографическая стальная длиной 12,5 мм, с внутренним диаметром 2,1 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Температура колонки: 40 °С.

Подвижная фаза: 10 мМ водный раствор гидроксида аммония – 10 мМ раствор гидроксида аммония в ацетонитриле (%, по объему) в градиентном режиме. Градиент потока элюента: до 11-й мин – 50 : 50, скорость потока элюента – 0,2 $см^3$/мин; с 11,5-й до 12,5-й мин – 0 : 100, скорость потока элюента – 0,5 $см^3$/мин; 13-я мин – 50 : 50, скорость потока элюента – 0,2 $см^3$/мин.

Время стабилизации хроматографической системы после анализа пробы: 11 мин (общее время анализа 24 мин).

Объем вводимой пробы: 10 $мм^3$.

Режим масс-спектрометра

Время подачи элюента во время анализа: 4,5—7,0 мин.

Газ-осушитель: азот с температурой 320 °С, расход 10 $м^3$/мин.

Расход газа периферийного слоя: 11 $м^3$/мин с температурой 400 °С.

Давление в распылителе: 30 psi.

Напряжение ионизации: 3 500 В.

Источник ионов: электроспрей.

Режим ионизации: отрицательный.

Режим сканирования: мониторинг множественных реакций (MRM).

Детектируемые переходы:

– 188,9→145,1 – переход количественного определения, время сканирования: 50 мс, энергия фрагментации: 80 В, энергия соударения: 10 В, напряжение на ускорителе ячейки: 7 В;

– 188,9→68,9 – качественный переход, время сканирования: 50 мс, энергия фрагментации: 70 В, энергия соударения: 40 В, напряжение на ускорителе ячейки: 7 В.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы флутоланила и его метаболитов с концентрацией 0,025 мкг/$см^3$, соответственно разбавляют.

10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется компьютерное программное обеспечение химического анализа, которое входит в хроматографическую систему.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание флутоланила или его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в пробах рассчитывают по формуле без учета полноты извлечения вещества из проб:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} P \text{, где}$$

X – содержание флутоланила или его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m – масса анализируемого образца, г (см^3);

P – содержание флутоланила или его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в аналитических стандартах, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости:

$$\frac{2|X_1 - X_2|100}{(X_1 + X_2)} \leq r \text{, где} \qquad (1)$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8 \times \sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100} \text{, где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

В случае если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«*содержание вещества в пробе менее 0,01 мг/кг**».

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочных характеристик осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочных характеристик проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в которых должно охватывать весь диапазон концентраций градуировочных характеристик.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

13.1.1. Градуировочная характеристика для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в воде:

$$A = \frac{(X - C)\,100}{C} \leq 3$$ для флутоланила; 8 – для М-2; 3 – для М-4;

9 – для М-101 и 5 – для М-102, где

X – концентрация флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в ацетонитриле, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

3 (8; 3; 9; 5) – погрешность градуировочной характеристики, %.

13.1.2. Градуировочная характеристика для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в почве:

$$A = \frac{(X - C)\,100}{C} \leq 9$$ для флутоланила; 10 – для М-2; 7 – для М-4;

6 – для М-101 и 4 – для М-102, где

X – концентрация флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в ацетонитриле, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

9 (10; 7; 6; 4) – погрешность градуировочной характеристики, %.

13.1.3. Градуировочная характеристика для определения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в клубнях картофеля:

$$A = \frac{(X - C)\,100}{C} \leq 8$$ для флутоланила; 8 – для М-2; 5 – для М-4;

10 – для М-101 и 7 – для М-102, где

X – концентрация флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в ацетонитриле, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

8 (8; 5; 10; 7) – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает указанные значения, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов флутоланила и его метаболитов, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом «добавок».

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д = \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг, при этом:

$$\Delta_л = \pm\, 0{,}84\ \Delta, \text{ где}$$

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K. \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R):

$$\frac{2|X_1 - X_2|100}{(X_1 + X_2)} \le R, \text{ где} \qquad (3)$$

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг;

R – предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Приложение 1

Полнота извлечения флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 из воды, почвы и клубней картофеля
(5 повторностей для каждой концентрации, P = 0,95)

Среда	Внесено, мг/кг (мг/дм^3)	Обнаружено, мг/кг (мг/дм^3)	Полнота определения, %
1	2	3	4
Флутоланил			
Вода	0,001	0,000907 ± 0,0001	90,7
	0,002	0,001894 ± 0,0000	94,7
	0,004	0,003846 ± 0,0001	96,2
	0,010	0,008304 ± 0,0005	83,1
Почва	0,01	0,01008 ± 0,0004	100,8
	0,02	0,01888 ± 0,0006	94,4
	0,05	0,04264 ± 0,0010	85,3
	0,10	0,08536 ± 0,0013	85,4
Клубни картофеля	0,01	0,00992 ± 0,0004	99,2
	0,02	0,01912 ± 0,0010	95,6
	0,05	0,04704 ± 0,0029	94,1
	0,10	0,09256 ± 0,0016	92,6
М-2			
Вода	0,001	0,000851 ± 0,0001	85,1
	0,002	0,001798 ± 0,0001	90,0
	0,004	0,003802 ± 0,0001	95,1
	0,010	0,007824 ± 0,0002	78,2
Почва	0,01	0,00956 ± 0,0004	95,6
	0,02	0,01792 ± 0,0004	89,6
	0,05	0,04160 ± 0,0011	83,2
	0,10	0,08472 ± 0,0015	84,7
Клубни картофеля	0,01	0,00928 ± 0,0004	92,8
	0,02	0,01800 ± 0,0008	90,0
	0,05	0,04616 ± 0,0021	92,3
	0,10	0,09120 ± 0,0019	91,2
М-4			
Вода	0,001	0,000907 ± 0,0000	90,7
	0,002	0,001866 ± 0,0000	93,3
	0,004	0,004013 ± 0,0001	100,3
	0,010	0,009104 ± 0,0003	91,1

Продолжение прилож. 1

1	2	3	4
Почва	0,01	0,00984 ± 0,0003	98,4
	0,02	0,0180 ± 0,0004	90,0
	0,05	0,0424 ± 0,0017	84,8
	0,10	0,0868 ± 0,0009	86,8
Клубни картофеля	0,01	0,00968 ± 0,0004	96,8
	0,02	0,01896 ± 0,0008	94,8
	0,05	0,04608 ± 0,0035	92,2
	0,10	0,0912 ± 0,0011	91,2
М-101			
Вода	0,001	0,000742 ± 0,0000	74,2
	0,002	0,001482 ± 0,0001	74,1
	0,004	0,003072 ± 0,0003	76,8
	0,010	0,007712 ± 0,0003	77,1
Почва	0,01	0,01104 ± 0,0003	110,4
	0,02	0,02016 ± 0,0006	100,8
	0,05	0,04728 ± 0,0019	94,6
	0,10	0,0956 ± 0,0018	95,6
Клубни картофеля	0,01	0,01008 ± 0,0004	100,8
	0,02	0,01912 ± 0,0006	95,6
	0,05	0,04608 ± 0,0013	92,2
	0,10	0,09088 ± 0,0021	90,9
М-102			
Вода	0,001	0,000804 ± 0,0000	80,4
	0,002	0,001476 ± 0,0000	73,8
	0,004	0,003051 ± 0,0001	76,3
	0,010	0,007332 ± 0,0001	73,3
Почва	0,01	0,008104 ± 0,0001	81,1
	0,02	0,01487 ± 0,0001	74,4
	0,04	0,03132 ± 0,0006	78,3
	0,10	0,07277 ± 0,0005	72,8
Клубни картофеля	0,01	0,00784 ± 0,0003	78,4
	0,02	0,01656 ± 0,0006	82,8
	0,05	0,04224 ± 0,0015	84,5
	0,10	0,08792 ± 0,0010	87,9

Определение остаточных количеств флутоланила и его метаболитов М-2, М-4, М-101 и М-102 в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3522—17

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 31.10.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 2,0
Тираж 150 экз. Заказ 53

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru