Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств седаксана в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3454—17

Издание официальное

Москва • 2017

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 седаксана в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3454—17

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств седаксана в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1597—5

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Н. Е. Федорова, В. В. Баюшева).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 декабря 2016 г. № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 15 марта 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1597—5

© Роспотребнадзор, 2017

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств седаксана в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

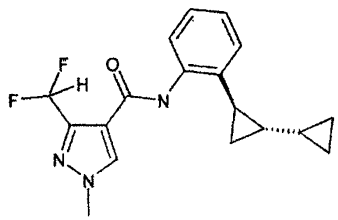
Методические указания МУК 4.1.3454—17

Свидетельство об аттестации № РОСС RU.0001.310430/0267.27.04.16.

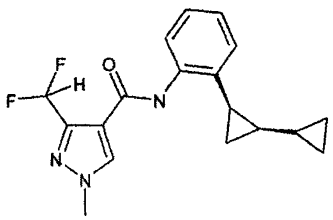
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур массовой концентрации *транс-* и *цис*-седаксана в диапазонах 0,00002—0,0008 мг/дм^3, 0,00025—0,01 мг/кг и 0,005—0,2 мг/кг (зерно, солома) соответственно.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Седаксан – смесь *цис-* и *транс*-изомеров 2'[(1RS, 2SR)-1,1'-бициклопро-2-ил]-3-(дифторметил)-1-метилпиразол-4-карбоксанилид (ИЮПАК).



транс-изомер



цис-изомер

$C_{18}H_{19}F_2N_3O$

Молекулярная масса: 331,4.

Белое порошкообразное вещество без запаха. Температура плавления: 121,4 °С. Давление паров: $6,5 \times 10^{-5}$ МПа (при 20 °С); $1,7 \times 10^{-4}$ МПа (при 25 °С). Растворимость в органических растворителях при 25 °С (в г/дм^3): ацетон – 410; н-гексан – 0,41; дихлорметан – 500; метанол – 110; октанол – 20; толуол – 70; этилацетат – 200. Растворимость в воде при 25 °С: 0,014 г/дм^3. Седаксан гидролитически стабилен при температуре 25 °С и в диапазоне pH 5; 7 и 9.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов > 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс > 5,24 мг/дм^3 (4 часа).

Область применения. Седаксан – фунгицид широкого спектра действия, рекомендуется к использованию в качестве протравителя семян злаковых культур для борьбы с широким спектром патогенов.

1. Метрологические характеристики

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.

Таблица 1

Значения характеристики погрешности, нормативов оперативного контроля точности, повторяемости, воспроизводимости

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности ($P = 0,95$), $\pm\delta$, %	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, %, ($P = 0,95$)
1	2	3	4	5	6	7
транс-седаксан						
Вода	0,00002—0,0008	50	2,7	3,8	8	11
Почва	0,00025—0,01	50	2,5	5,0	7	14

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Зерно	0,005—0,2	50	3,5	4,9	10	14
Солома	0,005—0,2	50	5,3	7,4	15	21
цис-седаксан						
Вода	0,00002—0,0008	50	3,0	4,2	8	12
Почва	0,00025—0,01	50	4,0	8,0	11	16
Зерно	0,005—0,2	50	3,8	5,3	11	15
Солома	0,005—0,2	50	5,6	7,8	16	22

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/дм^3, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
транс-седаксан					
Вода	0,00002	0,00002—0,0008	98,8	7,0	3,6
Почва	0,00025	0,00025—0,01	103,3	5,6	2,9
Зерно	0,005	0,005—0,2	101,2	4,1	2,2
Солома	0,005	0,005—0,2	92,0	5,7	3,0
цис-седаксан					
Вода	0,00002	0,00002—0,0008	97,2	6,1	3,2
Почва	0,00025	0,00025—0,01	102,3	5,3	2,8
Зерно	0,005	0,005—0,2	100,7	4,6	2,4
Солома	0,005	0,005—0,2	78,9	5,8	3,0

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором.

Уровни *транс-* и *цис*-седаксана в образцах почвы, зерна и соломы зерновых колосовых культур определяют после экстракции из анализируемых проб смесью ацетонитрил-вода, центрифугирования, очистки экстракта на концентрирующих патронах на основе сополимера дивинилбензола и N-винилпирролидона. Данные патроны использованы для концентрирования проб воды.

Нижний предел измерения каждого изомера седаксана в анализируемом объеме пробы – 0,001 нг.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с тандемным масс-спектрометрическим детектором: тройной квадруполь, снабженный автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст.	ТУ 2504-1797—75
Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности ± 0,1 мг	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 420 г, предел допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные 2-го класса точности 2-100-2, вместимостью 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Колбы мерные из полипропилена объемом 50 $см^3$	
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с притертой пробкой 2-го класса точности объемом 10,0 и 15,0 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Термометр лабораторный, пределы измерения –35…+55 °С	ТУ 25-2021.003—88
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 100, 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные из полипропилена вместимостью 50 $см^3$	

Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84

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

3.2. Реактивы

Седаксан (*транс*-изомер), аналитический стандарт с содержанием основного компонента 98,0 %	
Седаксан (*цис*-изомер), аналитический стандарт с содержанием основного компонента 98,0 %	
Азот осч, из баллона	ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73)
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14.2167—84
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Муравьиная кислота, 99,7 %, чда	ГОСТ 5848—73
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора), хч	ТУ 6-09-4173—85

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующих дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аллонж с прямым отводом для вакуума	
Аппарат для встряхивания проб, орбита до 10 мм	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Банки из полиэтилена с крышкой вместимостью 0,5 и 1,0 $дм^3$	
Воронки химические конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные из полипропилена диаметром 40 мм	
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Колба коническая плоскодонная вместимостью 250—300 $см^3$	ГОСТ 23932—90

Мельница лабораторная	
Мембраны микропористые капроновые, диаметр пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—03
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный	
Набор сит	ГОСТ 25336—82
Патроны для твердофазной экстракции на основе сополимера дивинилбензола и N-виниллирролидона, масса сорбента 60 мг	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком, вместимостью 150 и 2 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник обратный водяной	
Хроматографическая колонка стальная длиной 50 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращено-фазовым сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 1,8 мкм	
Центрифуга лабораторная роторная, скорость вращения до 4 000 об./мин с центрифужными стаканами на 100 $см^3$	
Фильтры мембранные полипропиленовые на шприц диаметром 13 мм и пористостью 0,22 мкм	
Шприцы медицинские одноразовые с разъемом Льюера вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ 22090
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—250 $мм^3$	

Примечание. Допускается использование вспомогательных устройств и материалов 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 по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

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 ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см^2), необходимо соблюдать Федеральные нормы и правила в области промышленной безопасности «Правила промышленной безопасности опасных производственных объектов, на которых используется оборудование, работающее под избыточным давлением» (утв. Приказом Ростехнадзора от 25.03.2014 № 116). Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы на жидкостном хроматографе, 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 и относительной влажности не более 80 %;

– выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка ацетонитрила (при необходимости), приготовление растворов, градуировочных растворов, растворов внесения, смесей для экстракции, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки,

установление градуировочных характеристик, подготовка концентрирующих патронов для очистки экстрактов.

7.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм^3 ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм^3 ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.2. Приготовление ацетонитрила, подкисленного муравьиной кислотой

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, вносят 0,22 см^3 муравьиной кислоты, доводят до метки ацетонитрилом, перемешивают.

Раствор хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.3. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

Компонент А: в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, вносят 0,22 см^3 муравьиной кислоты, доводят до метки ацетонитрилом, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

Компонент Б: в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 деионизированной воды, вносят 0,22 см^3 муравьиной кислоты, доводят до метки деионизированной водой, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

Каждый компонент подвижной фазы хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.4. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку подвижной фазой (смесь компонентов А и Б, приготовленных по п. 7.3, в соотношении 1 : 1) при скорости подачи растворителя 0,4 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.5. Приготовление смеси растворителей для экстракции и очистки экстракта

7.5.1. В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 800 см^3 ацетонитрила, 200 см^3 деионизованной воды, перемешивают.

7.5.2. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 90 см^3 ацетонитрила, 10 см^3 деионизованной воды, перемешивают.

Растворы хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.6. Приготовление смеси растворителей для приготовления рабочих растворов

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, 500 см^3 деионизованной воды, перемешивают.

Раствор хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.7. Подготовка концентрирующих патронов

Патрон устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума.

Концентрирующие патроны промывают с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, со скоростью прохождения растворителя через патрон 1—2 капли в секунду: последовательно метанолом и бидистиллированной водой (по 2 см^3). Патроны готовят непосредственно перед использованием.

7.8. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.8.1. Исходный раствор ***транс****-седаксана для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3).* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,0100 ± 0,0001) г *транс*-седаксана, добавляют 50—70 см^3 ацетонитрила, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь перемешивают. Раствор хранятся в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

7.8.2. Исходный раствор ***цис****-седаксана для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3).* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,0100 ± 0,0001) г *цис*-седаксана, добавляют 50—70 см^3 метанола, перемешивают, доводят метанолом до метки, вновь перемешивают. Раствор хранятся в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

Растворы № 1—8 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходных растворов для градуировки.

7.8.3. Растворы № 1 ***транс****- или* ***цис****-седаксана для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/см^3).* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора *транс*- (п. 7.8.1.) или *цис*-седаксана (п. 7.8.2) с концентрацией 100 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом до метки, перемешивают. Растворы № 1 хранятся в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

7.8.4. Раствор № 2 ***транс-*** *и* ***цис****-седаксана для градуировки и внесения (концентрация каждого вещества 1 мкг/см³).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают по 10,0 см³ градуировочных растворов № 1 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана 10,0 мкг/см³ (п. 7.8.3), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочий раствор № 2 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана 1 мкг/см³. Раствор № 2 хранится в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение одного месяца.

7.8.5. Рабочие растворы № 3—8 ***транс-*** *и* ***цис****-седаксана для градуировки (концентрация каждого вещества по 0,2—8,0 нг/см³).* В 2 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 0,8 и 0,4 см³ градуировочного раствора № 2 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана 1 мкг/см³ (п. 7.8.4), доводят до метки смесью растворителей, приготовленной по п. 7.6, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 3—4 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана 8,0 и 4,0 нг/см³ соответственно.

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают по 25 см³ градуировочного раствора № 3 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана 8,0 нг/см³, доводят до метки смесью растворителей, приготовленной по п. 7.6, тщательно перемешивают, получают рабочий раствор № 5 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана по 2,0 нг/см³.

В 3 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 25, 12,5 и 5 см³ градуировочного раствора № 4 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана 4,0 нг/см³, доводят до метки смесью растворителей, приготовленной по п. 7.6, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 6—8 с концентрацией *транс-* и *цис*-седаксана 1,0; 0,5 и 0,2 нг/см³ соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение одной недели.

Растворы с концентрацией 1 мкг/см³, 4 и 8 нг/см³ используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения веществ методом «внесено-найдено», а также при контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.9. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (I) от концентрации *транс-* и *цис*-седаксана в растворе (нг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 6 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб осуществлен в соответствии с ГОСТ 31861—12 «Вода. Общие требования к отбору проб»; ГОСТ 17.4.3.01—83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб»; ГОСТ 13586.3—15 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб»; ГОСТ Р ИСО 24333—11 «Зерно и продукты его переработки. Отбор проб»; ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма для животных. Отбор проб»; «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051-79 от 21.08.79).

Пробы воды отбирают и хранят в бутылях из полиэтилена (полипропилена) при температуре (4 ± 2) °С 1 неделю. Пробы почвы, зерна и соломы подсушивают и хранят при комнатной температуре не более 2 недель. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Вода. Образец воды объемом 50 см^3 отмеряют с помощью мерного цилиндра из полипропилена, пропускают через концентрирующий патрон, подготовленный по п. 7.7. После нанесения пробы, патрон дополнительно промывают 2 см^3 деионизованной воды, освобождают от следов влаги (сушат 10 мин) под вакуумом. Седаксан элюируют с патрона 5 см^3 ацетонитрила.

9.1.2. Почва. Образец почвы массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 см^3, добавляют 50 см^3 смеси ацетонитрил–вода (подготовленной по п. 7.5.1), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают на аппарат для встряхивания на 60 мин.

Пробам дают отстояться. Затем раствор переносят в центрифужный стакан на 100 см^3, центрифугируют 5 мин при 4 000 об./мин. Переносят аликвоту экстракта объемом 10 см^3 (соответствующую 2 г пробы почвы) в колбу на 50 см^3 и доводят водой до метки, перемешивают.

Далее проводят очистку экстракта на концентрирующем патроне. Для этого, полученный раствор фильтруют с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через концентрирующий патрон,

подготовленный по п. 7.7, со скоростью прохождения раствора 1—2 $см^3$/мин, пропуская раствор до верхнего края сорбента. После нанесения пробы, патрон дополнительно промывают 2 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (подготовленной по п. 7.5.2). Седаксан элюируют с патрона 1 $см^3$ ацетонитрила, доводят конечный объем до 2,5 $см^3$ деионизованной водой, перемешивают, выдерживают 1—2 мин на ультразвуковой ванне, фильтруют через мембранный фильтр, анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2.

9.1.3. Зерно и солома. Образец измельченного зерна массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (подготовленной по п. 7.5.1), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут.

Образец измельченной соломы массой 5 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$, вносят 25 $см^3$ деионизованной воды, оставляют на 30 мин, затем добавляют 100 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (подготовленной по п. 7.5.1), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут.

Пробам дают отстояться. Затем раствор переносят в центрифужный стакан на 100 $см^3$, центрифугируют 5 мин при 3 500 об./мин.

Переносят аликвоту экстракта зерна объемом 1,0 $см^3$ (соответствующую 0,1 г пробы), аликвоту экстракта соломы объемом 2,5 $см^3$ (соответствующую 0,1 г пробы) в градуированную пробирку соответственно на 10 $см^3$ (зерно) и 15 $см^3$ (солома), доводят водой до 10 $см^3$ (зерно) и 11,5 $см^3$ (солома), перемешивают.

Далее проводят очистку экстракта на концентрирующем патроне. Растворы, находящиеся в градуированный пробирках, фильтруют с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом через концентрирующий патрон, подготовленный по п. 7.7, со скоростью прохождения раствора 1—2 $см^3$/мин, пропуская раствор до верхнего края сорбента. После нанесения пробы, патрон дополнительно промывают 1 $см^3$ воды. Патрон сушат 15 мин под вакуумом. Седаксан элюируют с патрона 1,25 $см^3$ ацетонитрила, доводят конечный объем до 2,5 $см^3$ деионизованной водой, перемешивают, выдерживают 1—2 мин на ультразвуковой ванне, фильтруют через мембранный фильтр, анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2.

9.2. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах.

Жидкостный хроматограф с тандемным масс-спектрометрическим детектором: тройной квадруполь с источником ионизации, оснащенным соосной подачей горячего азота для эффективной десольвации ионов.

Источник ионизации: электростатическое распыление.

Режим работы: регистрация дочерних положительных ионов после разрушения материнских ионов (регистрация «перехода»).

Транс-седаксан

Материнский ион (масса/заряд): 332,16.

Дочерние ионы (масса/заряд): 159,0 (количественный расчет), 292,1.

Напряжение на фрагментаторе, В: 110.

Энергия разрушения (соударения), В: 13 (332,16→159,0), 9 (332,16→292,1).

Цис-седаксан

Материнский ион (масса/заряд): 332,16.

Дочерние ионы (масса/заряд): 159,0 (количественный расчет), 292,1.

Напряжение на фрагментаторе, В: 110.

Энергия разрушения (соударения), В: 17 (332,16→159,0), 9 (332,16→292,1).

Скорость сканирования: 200 мс.

Давление на распылителе: 35 *psi*.

Скорость осушающего газа 1 (азот): 10 $дм^3$/мин.

Температура газа 1: 350 °С.

Скорость газа 2 (азот): 12 $дм^3$/мин.

Температура газа 2: 400 °С.

Температура квадруполей (1 и 3): 100 °С.

Хроматографическая колонка стальная, длиной 50 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращено-фазовым сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 1,8 мкм.

Температура колонки: 40 °С.

Скорость потока элюента: 0,4 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 5 $мм^3$.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (1 : 1, по объему, 0,22 $см^3/дм^3$ муравьиной кислоты).

Линейный диапазон детектирования 1—40 пг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 8,0 $нг/см^3$, разбавляют подвижной фазой (не более чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

Содержание седаксана (в виде суммы *транс-* и *цис*-изомеров) в пробах воды, почвы, зерна и соломы (X, мг/дм^3, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A + B) \cdot V \cdot C}{1\,000 \cdot m}, \text{ где}$$

A, B – концентрации *транс-* и *цис*-седаксана соответственно, найденные по градуировочным графикам в соответствии с величинами площадей хроматографических пиков, нг/см^3;

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

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

C – коэффициент, учитывающий объем экстракта, взятого для анализа, C = 100 (зерно), 50 (солома), C = 5 (почва), C = 10 (вода).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде: ($\overline{X} \pm \Delta$), мг/кг, мг/дм^3 при вероятности P = 0,95, где

$\overline{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг, мг/дм^3;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание седаксана (в виде суммы **транс-** и **цис-**изомеров) в пробе воды – менее 0,00004 мг/дм^3; в пробе почвы – менее 0,0005 мг/кг; в пробе зерна и соломы – менее 0,01 мг/кг»**.

* 0,00004 мг/дм^3; 0,0005 мг/кг; 0,01 мг/кг – пределы обнаружения седаксана (в виде суммы *транс-* и *цис-*изомеров) в воде, почве, зерне и соломе соответственно.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений 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 градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание *транс-* и *цис-*седаксана в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,2 до 8,0 нг/см^3.

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

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \le B, \text{ где} \qquad (2)$$

X – концентрация *транс-* и *цис-*седаксана в пробе при контрольном измерении, нг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора *транс-* и *цис-*седаксана, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, нг/см^3;

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (равен 10 % при $P = 0,95$).

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, 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 *транс-* и *цис-*седаксана, предусмотренных МИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.9.

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:

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

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг, мг/дм^3, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг, мг/дм^3:

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

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, концентрация добавки соответственно, мг/кг, мг/дм^3.

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

$$|K_к| \leq K, \qquad (3)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (3) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (3) 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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (*R*):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2|}{X_1 + X_2} \cdot 100 \leq R \text{, где} \qquad (4)$$

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

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

Определение остаточных количеств седаксана в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3454—17

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

Подписано в печать 27.12.17

Формат 60x88/16

Печ. л. 1,25

Тираж 125 экз.

Заказ 86

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