Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тиаметоксама и его метаболита клотианидина в бананах, цитрусовых, чае и кофе-бобах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3444—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 тиаметоксама и его метаболита клотианидина в бананах, цитрусовых, чае и кофе-бобах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3444—17

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств тиаметоксама и его метаболита клотианидина в бананах, цитрусовых, чае и кофебобах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—18 с.

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

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 13 марта 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

© 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
13 марта 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тиаметоксама и его метаболита клотианидина в бананах, цитрусовых, чае и кофе-бобах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

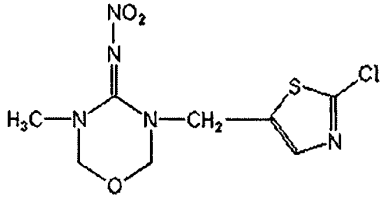
Методические указания МУК 4.1.3444—17

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в бананах, цитрусовых, чае и кофе-бобах массовой концентрации тиаметоксама и его метаболита клотианидина в диапазонах 0,01—0,1 мг/кг, 0,01—0,1 мг/кг, 0,05—0,5 мг/кг и 0,02—0,2 мг/кг соответственно.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Тиаметоксам

3-(2-хлор-1,3-тиазол-5-илметил)-5-метил-[1,3,5]оксадиазинан-4-илиден-N-нитроамин (ИЮПАК)



$C_8H_{10}ClN_5O_3S$

Молекулярная масса: 291,7.

Белый кристаллический порошок без запаха. Температура плавления 139,1 °С. Давление паров $6,6 \times 10^{-6}$ МПа (при 25 °С). Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = –0,13. Растворимость в ор-

ганических растворителях при 25 °С (в г/дм^3): ацетонитрил – 78; ацетон – 42,5; дихлорметан – 43; метанол – 10,2; этилацетат – 5,7; толуол – 0,6. Растворимость в воде при 20 °С: 4,1 г/дм^3. Стабилен к гидролизу при температуре 20 °С при pH от 1 до 7; DT_{50} при pH 9 – 11,5 дней.

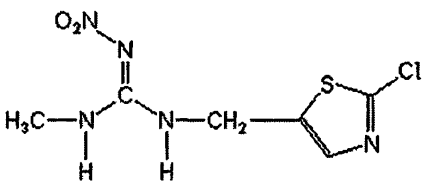
В присутствии света в водных фотолитических условиях тиаметоксам быстро деградирует с периодом полураспада 2,3 дня.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1 560 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 3 720 мг/м^3 воздуха.

Основным продуктом метаболитической деградации тиаметоксама в растительной продукции является клотианидин.

Клотианидин

(Е)-1-(2-хлор-1,3-тиазол-5-илметил)-3-метил-2-нитрогуанидин (ИЮПАК)



$C_6H_8ClN_5O_2S$

Молекулярная масса: 249,7.

Светло-кремовый порошок без запаха. Температура плавления 176,8 °С. Давление паров 2,8 × 10^{-8} МПа (при 25 °С). Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 0,905. Растворимость в органических растворителях при 25 °С (в г/дм^3): ацетон – 15,2; этилацетат – 2,03; ксилол – 0,0128. Растворимость в воде при 20 °С: 0,34 г/дм^3. Стабилен к гидролизу при pH 5, 7, 9 (при 20 °С).

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 6 141 мг/м^3.

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/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, %, ($P = 0,95$)
Тиаметоксам						
Бананы	0,01—0,1	50	6,1	8,5	17	24
Цитрусовые	0,01—0,1	50	6,7	9,4	19	26
Чай	0,05—0,5	50	5,6	7,8	16	22
Кофе-бобы	0,02—0,2	50	6,4	9,0	18	25
Клотианидин						
Бананы	0,01—0,1	50	8,4	11,7	23	33
Цитрусовые	0,01—0,1	50	6,5	9,1	18	25
Чай	0,05—0,5	50	5,7	8,0	16	23
Кофе-бобы	0,02—0,2	50	7,4	10,3	21	29

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

Таблица 2

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
1	2	3	4	5	6
Тиаметоксам					
Бананы	0,01	0,01—0,1	98,3	6,2	3,2
Цитрусовые	0,01	0,01—0,1	95,1	6,7	3,5

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6
Чай	0,05	0,05—0,5	100,2	6,4	3,3
Кофе-бобы	0,02	0,02—0,2	95,9	6,7	3,5
Клотианидин					
Бананы	0,01	0,01—0,1	99,6	10,3	5,4
Цитрусовые	0,01	0,01—0,1	91,7	9,9	5,2
Чай	0,05	0,05—0,5	95,8	6,5	3,4
Кофе-бобы	0,02	0,02—0,2	90,0	10,7	5,6

2. Метод измерений

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

Экстракцию веществ из анализируемых проб выполняют ацетонитрилом с использованием смеси солей для экстракции (смесь сульфата магния и хлорида натрия), очистку экстрактов проводят методом дисперсионной твердофазной экстракции с применением смеси сорбентов на основе амина, октадецилсилана и графитизированной сажи.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

Нижний предел измерения тиаметоксама или его метаболита клотианидина в анализируемом объеме пробы – 0,02 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, наибольший предел взвешивания 420 г, предел допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08

Колбы мерные вместимостью 2-50-2, 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
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
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
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

Тиаметоксам, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,7 %	
Клотианидин, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 98,2 %	
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
Магний сернокислый (сульфат магния), безводный, хч	ГОСТ 4523—77
Натрий хлористый (хлорид натрия), хч	ГОСТ 4233—77
Сорбент для твердофазной экстракции на основе силикагеля с привитыми пропиламинными группами: $(CH_2)_3NH_2$), площадь поверхности ~570 $м^2/г$, средний размер пор 67 А, средний размер частиц 60 мкм	
Сорбент для твердофазной экстракции на основе силикагеля с привитыми октадецильными группами $(CH_2)_{17}CH_3$ (С18), площадь поверхности ~547 $м^2/г$, средний размер пор 64 А, средний размер частиц 58 мкм	

Графитизированная сажа, специфическая площадь поверхности ~100 $м^2/г$, размер частиц 120/400 меш	
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Муравьиная кислота, 99,7 %, чда	ГОСТ 5848—73
Уксусная кислота, 99,5 %, чда	ГОСТ 61—75
Аммоний муравьинокислый (формиат аммония), 99,0 %, чда	
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

Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Воронки химические конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Мельница лабораторная	
Мембраны микропористые капроновые, диаметр пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—03
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Керамические гомогенизаторы для пробирок на 50 $см^3$	
Пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками, вместимостью 50 и 2 $см^3$	
Пробирки со шлифом вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей	
Фильтры мембранные для фильтрации проб с помощью шприца, размер пор 0,22 мкм	
Холодильник обратный водяной	
Хроматографическая колонка стальная длиной 150 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 $см^3$	

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 солей для экстракции и сорбентов для очистки экстрактов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочных характеристик.

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. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

Компонент А: раствор 0,05 % (по весу) формиата аммония + 0,01 % (по объему) муравьиной кислоты в воде.

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 0,5 г формиата аммония, растворяют в 300—400 см^3 бидистиллированной воды, вносят 0,1 см^3 муравьиной кислоты, доводят до метки водой, перемешивают.

Компонент Б: раствор 0,01 % (по объему) муравьиной кислоты в метаноле.

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 метанола, вносят 0,1 см^3 муравьиной кислоты, доводят до метки деионизированной водой, перемешивают.

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

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку подвижной фазой (смесь компонентов А и Б, приготовленных по п. 7.2, в соотношении 1 : 1) при скорости подачи растворителя 0,4 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление раствора уксусной кислоты в ацетонитриле с объемной долей 1% (1%-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 300—400 см^3 ацетонитрила, вносят 10 см^3 ледяной уксусной кислоты, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь перемешивают. Раствор хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.5. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.5.1. Исходный раствор тиаметоксама для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,0100 ± 0,0001) г тиаметоксама, добавляют 50—70 см^3 ацетонитрила, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

7.5.2. Исходный раствор клотианидина для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,0100 ± 0,0001) г клотианидина, добавляют 50—70 см^3 ацетонитрила, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

Растворы № 1—6 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходных растворов для градуировки.

7.5.3. Растворы № 1 тиаметоксама или клотианидина для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора тиаметоксама (п. 7.5.1) или клотианидина (п. 7.5.2) с концентрацией 100 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом до метки, перемешивают.

Раствор № 1 хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

7.5.4. Раствор № 2 тиаметоксама и клотианидина для градуировки и внесения (концентрация каждого вещества 1 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают по 10,0 см^3 градуировочных растворов № 1 с концентрацией тиаметоксама и клотианидина 10,0 мкг/см^3 (п. 7.5.3), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочий раствор № 2 с концентрацией тиаметоксама и клотианидина 1 мкг/см^3.

Раствор № 2 хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение одного месяца.

7.5.5. Рабочие растворы № 3—6 тиаметоксама и клотианидина для градуировки (концентрация каждого вещества по 0,01—0,1 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 10,0; 5,0; 2,0; 1,0 см^3 градуировочного раствора № 2 с концентрацией тиаметоксама и клотианидина 1 мкг/см^3 (п. 7.5.4), доводят до метки раствором, приготовленным по п. 7.4, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 3—6 с концентрацией тиаметоксама и клотианидина 0,1; 0,05; 0,02; 0,01 мкг/см^3 соответственно.

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

7.6. Приготовление смеси солей для экстракции

Для приготовления одного набора смеси солей для экстракции смешивают (4 ± 0,01) г магния сернокислого и (1 ± 0,01) г натрия хлористого, до использования хранят в герметичной упаковке (не более 6 месяцев).

Примечание. Возможно использование других наборов солей для экстракции проб фруктов и овощей массой 10 г.

7.7. Приготовление смеси сорбентов для очистки экстрактов

Для приготовления одного набора смеси сорбентов для очистки экстрактов в центрифужную полипропиленовую пробирку вместимостью 2 $см^3$ помещают (50 ± 4) мг сорбента для твердофазной экстракции на основе первичного-вторичного амина, (50 ± 4) мг графитизированной сажи, (150 ± 4) мг магния сернокислого и (50 ± 4) мг твердофазного сорбента на основе октадецилсилана, закрывают герметично крышкой, встряхивают для перемешивания, хранят не более 6 месяцев.

Примечание. Возможно использование дисперсионных наборов для фруктов и овощей с маслом и пигментами, помещенных в полипропиленовые пробирки вместимостью 2 $см^3$.

7.8. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (I) от концентрации тиаметоксама и клотианидина в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 2 $мм^3$ каждого градуировочного раствора, приготовленного по п. 7.5.5, и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков веществ, на основании которых строят градуировочные зависимости.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб осуществляют в соответствии с ГОСТ Р 51603—2000 «Бананы свежие. Технические условия»; ГОСТ Р 53596—09 «Плоды цитрусовых культур для употребления в свежем виде. Технические условия»; ГОСТ 32573—13 «Чай черный. Технические условия»; ГОСТ ИСО 4072—15 «Кофе зеленый в мешках. Отбор проб» и «Унифициро-

ванными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Пробы бананов, цитрусовых, чая и кофе-бобов хранят при температуре (4 ± 2) °С не более недели. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С.

Перед анализом образцы измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

Образец измельченных плодов бананов, цитрусовых массой 10 г, кофе-бобов массой 5 г, чая массой 2 г помещают в центрифужную полипропиленовую пробирку вместимостью 50 $см^3$. В пробирки с пробой кофе-бобов и чая вносят по 10 $см^3$ бидистиллированной воды, перемешивают, оставляют на 5 мин.

Затем в пробирки с пробами бананов, кофе-бобов и чая вносят 10 $см^3$ 1%-го раствора уксусной кислоты в ацетонитриле, с пробой цитрусовых – 10 $см^3$ ацетонитрила, помещают в пробирку керамический гомогенизатор, закрывают крышку и интенсивно встряхивают вручную 30 с, вносят в пробирку смесь солей для экстракции (приготовленную по п. 7.6), закрывают крышкой и интенсивно встряхивают (вручную) в течение 1 мин. Затем пробу центрифугируют в течение 5 мин при скорости вращения 4 000 об./мин и подвергают очистке с применением дисперсионной твердофазной экстракции по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта

Аликвоту экстракта (верхний слой в пробирке после центрифугирования) объемом 1,5—1,8 $см^3$ с помощью пипетки переносят в пропиленовую центрифужную пробирку, содержащую смесь сорбентов, приготовленную по п. 7.7, закрывают крышку и интенсивно встряхивают вручную в течение 30 с. Центрифугируют 15 мин при скорости вращения 4 000 об./мин. Отбирают с помощью медицинского шприца раствор, фильтруют через мембранный фильтр (размер пор 0,22 мкм) в виалу вместимостью 2 $см^3$ с фторопластовой прокладкой и навинчивающейся крышкой. Помещают в автосамплер хроматографа для анализа в условиях хроматографирования по п. 9.3.

9.3. 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»).

Тиаметоксам

Материнский ион (масса/заряд): 292,2.

Дочерние ионы (масса/заряд): 211,0 (количественный расчет), 181,0.

Напряжение на фрагментаторе, В: 85.

Энергия разрушения (соударения), В: 4 (292,2→211,0), 16 (292,2→181,0).

Клотианидин

Материнский ион (масса/заряд): 250,0.

Дочерние ионы (масса/заряд): 169,1 (количественный расчет), 132,1.

Напряжение на фрагментаторе, В: 90.

Энергия разрушения (соударения), В: 7 (250,0→169,1), 15 (250,0→132,1).

Скорость сканирования: 200 мс.

Давление на распылителе: 35 *psi.*

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

Температура газа 1: 250 °С.

Скорость газа 2 (азот): 11 $дм^3$/мин.

Температура газа 2: 340 °С.

Напряжение на капилляре: 4 500 В.

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

Хроматографическая колонка стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращено-фазовым сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 1,8 мкм.

Температура колонки: 45 °С.

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

Объем вводимой пробы: 2 $мм^3$.

Подвижная фаза: компонент А – раствор 0,05 % (по весу) формиата аммония + 0,01 % (по объему) муравьиной кислоты в воде; компонент Б – раствор 0,01 % (по объему) муравьиной кислоты в метаноле.

Режим элюирования (градиентный), пробег 10 мин (табл. 3), промывка колонки после анализа 10 мин.

Таблица 3

Режим элюирования

Время, мин	Компонент А, %	Компонент Б, %
0	90	10
5,0	35	65
6.5	5	95
8.5	5	95
10	90	10

Линейный диапазон детектирования 0,02—0,2 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом, содержащим 1 % уксусной кислоты (не более чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

Содержание тиаметоксама с учетом его метаболита клотианидина (в эквиваленте действующего вещества) в пробах бананов, цитрусовых, чае и кофе-бобах (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V}{m}, \text{ где}$$

A – концентрация тиаметоксама или клотианидина, найденная по градуировочным графикам в соответствии с величинами площадей хроматографических пиков, мкг/см^3;

V – объем экстракта (10 см^3);

m – масса анализируемого образца, г.

При необходимости представления содержания тиаметоксама с учетом его метаболита в эквиваленте действующего вещества рассчитанное содержание клотианидина умножается на коэффициент пересчета по соотношению молекулярных масс (равен 1,17) и суммируется с содержанием тиаметоксама.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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 при вероятности $P = 0{,}95$, где

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

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 тиаметоксама или клотианидина в пробе бананов и цитрусовых – менее 0,01 мг/кг; в пробе чая – менее 0,05 мг/кг; в пробе кофе-бобов – менее 0,02 мг/кг*».

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 тиаметоксама и клотианидина в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,01 до 0,1 мкг/см^3.

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

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

X – концентрация тиаметоксама или клотианидина в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора тиаметоксама или клотианидина, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/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 тиаметоксама и клотианидина, предусмотренных МИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.8.

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, при этом:

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

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), %.

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.

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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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 тиаметоксама и его метаболита клотианидина в бананах, цитрусовых, чае и кофе-бобах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3444—17

Ответственный за выпуск Н. В. Карташева

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

Подписано в печать 09.10.17

Формат 60x84/16 Печ. л. 1,25

Тираж 125 экз. Заказ

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru