Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств спиротетрамата и его основного метаболита спиротетрамат-енола в семенах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3352—16

Издание официальное

Москва • 2016

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 спиротетрамата и его основного метаболита спиротетрамат-енола в семенах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3352—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств спиротетрамата и его основного метаболита спиротетрамат-енола в семенах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—18 с.

ISBN 978—5—7508—1519—7

1. Разработаны сотрудниками ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Т. В. Юдина, Н. Е. Федорова, Л. В. Горячева).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 17 декабря 2015 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 10 марта 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1519—7

© Роспотребнадзор, 2016
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
10 марта 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств спиротетрамата и его основного метаболита спиротетрамат-енола в семенах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3352—16

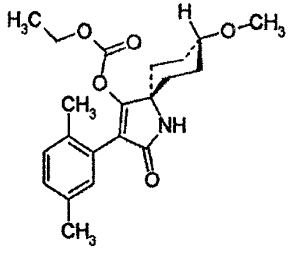
Свидетельство об аттестации № РОСС RU.0001.310430/0243.26.10.15.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тройным квадрупольным масс-детектором для определения массовой концентрации спиротетрамата и его основного метаболита спиротетерамат-енола в семенах и масле сои в диапазоне 0,01—0,2 мг/кг (каждого вещества) соответственно.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Спиротетрамат (BYI 08330)

cis-3-(2,5-Диметилфенил)-8-метокси-2-оксо-1-азаспиро[4,5]дес-3-ен-4-ил этил карбамат (IUPAC)



$C_{21}H_{27}NO_5$

Молекулярная масса 373,45.

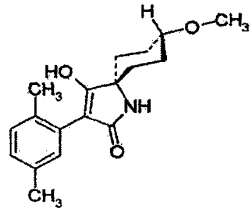
Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления: 142 °С. Давление паров (Па): $5,6 \cdot 10^{-9}$ (при 20 °С); $1,5 \cdot 10^{-8}$ (при 25 °С); $1,5 \cdot 10^{-6}$ (при 50 °С). Плотность: 1,22. Растворимость в органических растворителях (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – 100—120; дихлорметан – более 600; этилацетат – 67; этанол – 44; толуол – 60; *н*-октанол – 140; *н*-гексан – 0,055. Растворимость в воде (мг/дм^3) при 20 °С: 33,5 (pH 4); 29,9 (pH 6,9); 19,1 (pH 9). Коэффициент распределения *н*-октанол–вода – $\log K_{ow}$ = 2,51 (pH 4, 7); 2,50 (pH 9).

Основным продуктом метаболитической деградации спиротетрамата в растениях, воде, почве является спиротетрамат-енол (*BYI 08330-enol*).

Краткая токсикологическая характеристика спиротетрамата. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс (4 ч) – 4,18 мг/дм^3.

Спиротетрамат-енол (BYI 08330-enol)

cis-3-(2,5-Диметилфенил)-4–гидрокси-8-метокси-1-азаспиро[4,5]-дес-3-ен-2-он (IUPAC)



$C_{18}H_{23}NO_3$

Молекулярная масса: 301,39.

Бесцветное кристаллическое вещество, удовлетворительно растворимое в воде: 2,7 г/дм^3 (pH 7). Коэффициент распределения *н*-октанол–вода – $\log K_{ow}$ = 0,3 (pH 7). Является слабой кислотой: pKa = 5,2.

Область применения препарата. Спиротетрамат – системный инсектицид класса кетоенолов, рекомендуемый для борьбы с широким спектром сосущих насекомых на различных сельскохозяйственных культурах (фрукты, овощи, виноград, хмель и др.).

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

Метрологические параметры

Определяемое вещество	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности, P = 0,95), ±δ, %	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_1, %	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*, %
Семена сои						
Спиротетрамат	0,01—0,2	50	4,2	5,9	12	17
Спиротетрамат-енол	0,01—0,2	50	2,5	3,5	7	10
Соевое масло						
Спиротетрамат	0,01—0,2	50	2,7	3,8	8	11
Спиротетрамат-енол	0,01—0,2	50	2,6	3,6	7	10

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

Определяемое вещество	Метрологические параметры, $P = 0,95$; $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	средняя полнота извлечения, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Семена сои					
Спиротетрамат	0,01	0,01—0,2	84,6	12,5	± 6,65
Спиротетрамат-енол	0,01	0,01—0,2	86,4	15,7	± 8,35
Соевое масло					
Спиротетрамат	0,01	0,01—0,2	79,3	3,8	± 2,02
Спиротетрамат-енол	0,01	0,01—0,2	81,5	3,0	± 1,60

2. Метод измерений

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

Уровни спиротетрамата и его метаболита спиротетрамат-енола в пробах в образцах семян и масла сои определяют после экстракции из анализируемых проб смесью ацетонитрил–вода–муравьиная кислота, фильтрации, очистки экстракта на концентрирующих патронах С18, с последующим разбавлением пробы смесью ацетонитрил–вода–муравьиная кислота.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки. Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы – 0,5 пг.

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 с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности ± 0,1 мг	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные аналитические с пределом взвешивания 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные 2-100-2, 2-200-2, 2-500-2 и 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 и 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 50, 100, 250, 500 и 1 000 $см^3$	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

Спиротетрамат, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,2 %	
Спиротетрамат-енол, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,6 %	
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
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

Аппарат для встряхивания проб, орбита до 10 мм	ТУ 64-1-2851—78
Баня водяная	
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Бумажный фильтр средней плотности	ТУ 6-091678—95
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки химические конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Гомогенизатор бытовой	
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колба коническая плоскодонная вместимостью 250—300 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Мембраны микропористые капроновые, диаметр пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—03

Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный	ГОСТ 25336—82
Патроны для твердофазной экстракции, заполненные обращено-фазовым сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, масса сорбента 10 г	
Пробирки с пришлифованной пробкой вместимостью 10 $см^3$	
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	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Фильтры мембранные для фильтрации проб с помощью шприца, размер пор 0,22 мкм	
Холодильник обратный водяной	
Хроматографическая колонка стальная длиной 50 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращено-фазовым сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернение 1,8 мкм	
Центрифуга лабораторная, роторная, скорость вращения до 3 500 об./мин с центрифужными стаканами на 100 $см^3$	
Шприцы медицинские одноразовые с разъемом Луера вместимостью 10 и 20 $см^3$	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—250 $мм^3$	

Примечание. Допускается использование вспомогательных средств измерений, 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 «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576-03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалиста, прошедшего обучение, освоившего методику, владеющего техникой, имеющего опыт работы на жидкостном хроматографе, подтвердившего экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

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 органических растворителей (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

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, вносят 0,22 см^3 муравьиной кислоты, добавляют 500 см^3 бидистиллированной или деионизованной воды, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр, дегазируют.

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

7.4. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.3) при скорости подачи растворителя 0,4 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.5. Приготовление смесей растворителей для экстракции

7.5.1. В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 800 см^3 ацетонитрила, 200 см^3 деионизованной воды, 0,22 см^3 муравьиной кислоты, перемешивают.

7.5.2. В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 200 см^3 ацетонитрила, 800 см^3 деионизованной воды, 0,22 см^3 муравьиной кислоты, перемешивают.

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

7.6. 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 2—3 капли в секунду: последовательно ацетонитрилом, водой, смесью для экстракции, приготовленной по п. 7.5.1, порциями по 40 $см^3$. Патроны готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

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

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

7.7.2. Исходный раствор спиротетрамат-енола для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,0100 г спиротетрамат-енола, добавляют 50—70 $см^3$ метанола, перемешивают, доводят метанолом до метки, вновь перемешивают.

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

Растворы № 1—9 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходных растворов для градуировки.

7.7.3. Раствор № 1 спиротетрамата или спиротетрамат-енола для градуировки и внесения (концентрация 1 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ исходного раствора спиротетрамата (п. 7.7.1) или спиротетрамат-енола (п. 7.7.2) с концентрацией 100 мкг/$см^3$, разбавляют ацетонитрилом до метки, перемешивают.

Раствор № 1 хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 3 недель.

Растворы с концентрацией 1 мкг/$см^3$ используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения веществ методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом «добавок».

7.7.4. Раствор № 2 спиротетрамата и спиротетрамат-енола для градуировки и внесения (концентрация 0,01 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают по 1,0 $см^3$ градуировочных растворов № 1 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола 1,0 мкг/$см^3$ (п. 7.7.3), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.3,

тщательно перемешивают, получают рабочий раствор № 2 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола 0,01 мкг/см^3.

Раствор № 2 хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 3 недель.

7.7.5. Рабочие растворы № 3—7 спиротетрамата и спиротетрамат-енола для градуировки (концентрация каждого вещества по 0,1—2,0 нг/см^3). В 3 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0; 2,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 2 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола 0,01 мкг/см^3 (п. 7.7.4), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.3, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 3—5 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола по 0,1; 0,2 и 1,0 нг/см^3 соответственно.

В 2 мерные колбы вместимостью 50 см^3 помещают по 7,5 и 10 см^3 градуировочного раствора № 2 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола 0,01 мкг/см^3 (п. 7.7.4), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.3, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 6—7 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола по 1,5 и 2,0 нг/см^3 соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 3 недель.

7.8. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (I) от концентрации спиротетрамата и спиротетрамат-енола в растворе (нг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с требованиями ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и «Унифицированных правил отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051—79 от 21.08.79).

Отобранные пробы семян сои хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике в темноте не более 30 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре не выше

–18 °С. Пробы масла хранят в холодильнике при температуре 0—4 °С в герметично закрытой стеклянной таре не более 2 месяцев.

Перед анализом образцы семян измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Семена сои. Образец измельченных семян сои массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$, добавляют 40 $см^3$ смеси для экстракции, приготовленной по п. 7.5.1, интенсивно встряхивают (или гомогенизируют) в течение 1 мин, затем помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут.

Пробам дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной бумажный фильтр средней плотности. Растительный остаток на фильтре промывают 20 $см^3$ смеси для экстракции, подготовленной по п. 7.5.1 (дважды по 10 $см^3$). Раствор также фильтруют на воронке Бюхнера. Объединенный отфильтрованный экстракт пропускают через концентрирующий патрон, подготовленный по п. 7.6.

9.1.2. Соевое масло. Образец масла массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$, добавляют 40 $см^3$ ацетонитрила кислого (подготовленного по п. 7.2), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут.

Пробам дают отстояться до полного расслаивания фаз. Затем верхний слой переносят в колбу на 100 $см^3$, отбирая с помощью пипетки, вносят в раствор 20 $см^3$ смеси для экстракции, подготовленной по п. 7.5.1, перемешивают. Раствор также фильтруют на воронке Бюхнера.

Далее проводят очистку экстракта на концентрирующем патроне по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта на концентрирующем патроне

Пробу, полученную по п. 9.1.1 или 9.1.2, фильтруют с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через концентрирующий патрон, подготовленный по п. 7.6, со скоростью прохождения раствора 3—4 капли в секунду (3 $см^3$/мин), пропуская раствор до верхнего края сорбента. После нанесения пробы патрон дополнительно промывают еще 100 $см^3$ смеси для экстракции, подготовленной по п. 7.5.1 (4 раза по 25 $см^3$). Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерную колбу вместимостью 200 $см^3$, доводят до метки смесью для экстракции, подготовленной по п. 7.5.1, перемешивают.

К 1 см^3 подготовленного экстракта добавляют 4 см^3 смеси, подготовленной по п. 7.5.2, перемешивают и анализируют на содержание спиротетрамата и спиротетрамат-енола 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»).

Спиротетрамат

Материнский ион (масса/заряд): 374,2.

Дочерние ионы (масса/заряд): 302 (количественный расчет); 216,02.

Напряжение на фрагментаторе, В: 110.

Энергия разрушения (соударения), В: 10 (374,2→302); 30 (374,2→216,02).

Спиротетрамат-енол

Материнский ион (масса/заряд): 302,2.

Дочерние ионы (масса/заряд): 270,1 (количественный расчет), 216.

Напряжение на фрагментаторе, В: 129.

Энергия разрушения (соударения), В: 20 (302,2→270,1); 30 (302,2→216).

Скорость сканирования: 200 мс.

Давление на распылителе: 20 *psi.*

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

Температура газа 1: 325 °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, зернение 1,8 мкм.

Температура колонки: 30 °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 муравьиной кислоты на 1 дм^3 смеси).

Линейный диапазон детектирования: 0,5—10 пг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 2,0 нг/см^3, разбавляют подвижной фазой (не более чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

Содержание спиротетрамата в пробах семян и масла сои с учетом его основного метаболита спиротетрамат-енола в эквиваленте действующего вещества (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A + B \cdot K) \cdot V \cdot C}{1000 \cdot m}, \text{ где}$$

A, B – концентрации спиротетрамата и спиротетрамат-енола 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 анализируемого образца, г;

C – коэффициент, учитывающий объем экстракта, взятый для анализа, $C = 200$ (семена и масло сои);

K – коэффициент пересчета содержания метаболита спиротетрамат-енола на эквивалент спиротетрамата, по соотношению молекулярных масс (равен 1,24).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

$\bar{X}$ – 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 спиротетрамата и спиротетрамат-енола в пробах семян и масла сои – менее 0,01 мг/кг*»*.

* 0,01 мг/кг – нижний предел количественного определения в пробах семян и масла сои.

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 проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание спиротетрамата и спиротетрамат-енола в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,1 до 2,0 нг/см^3.

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

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq B, \text{ где}$$

X – концентрация спиротетрамата и спиротетрамат-енола в пробе при контрольном измерении, нг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора спиротетрамата и спиротетрамат-енола, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, нг/см^3;

B – норматив контроля градуировочной характеристики для спиротетрамата и спротетрамат-енола (B = 10 %).

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для даль-

нейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов спиротетрамата и спиротетрамат-енола, предусмотренных МВИ. 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

$$|K_к| \leq K, \quad (2)$$

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):

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

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 спиротетрамата и его основного метаболита спиротетрамат-енола в семенах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3352—16

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Ю. А. Паршина, Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 30.12.16

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 100

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