Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пиметрозина в воде, пиметрозина и его основного метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3341—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 пиметрозина в воде, пиметрозина и его основного метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3341—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств пиметрозина в воде, пиметрозина и его основного метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—18 с.

ISBN 978—5—7508—1499—2

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 26 февраля 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1499—2

© 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
26 февраля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пиметрозина в воде, пиметрозина и его основного метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3341—16

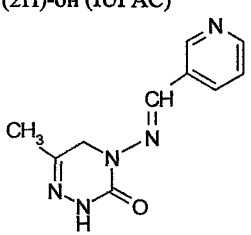
Свидетельство об аттестации № РОСС RU.0001.310430/0225.06.04.15.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тройным квадрупольным масс-детектором для определения массовой концентрации пиметрозина в воде в диапазоне 0,0005—0,010 мг/дм^3, пиметрозина и его основного метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в почве в диапазоне 0,005—0,1 мг/кг (каждого вещества).

Методические указания носят рекомендательный характер.

Пиметрозин

(E)-4,5-дигидро-6-метил-4-(3-пиридилметиленамино)-1,2,4-триазин-3(2H)-он (IUPAC)



$C_{10}H_{11}N_5O$

Молекулярная масса: 217,2.

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления: 217 °С. Давление паров: $< 4 \cdot 10^{-3}$ МПа (25 °С). Плотность: 1,36. Растворимость в органических растворителях при 25 °С (в г/дм^3): ацетон – 0,94; дихлорметан – 1,2; этилацетат – 0,26; этанол – 2,4; толуол – 0,034; *н*-октанол – 0,45; *н*-гексан – < 0,001. Растворимость в воде при 25 °С (г/дм^3): 0,29 (pH 6,5). Коэффициент распределения *н*-октанол–вода – $\log K_{ow} = -0,18$. Стабилен на воздухе.

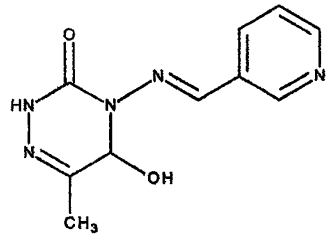
Гидролиз водных растворов при 25 °С: DT_{50} 5—12 дней (pH 5), 616—800 дней (pH 7), 510—1 212 дней (pH 9).

Основным продуктом метаболитической деградации пиметрозина в почве является 5-гидрокси-пиметрозин.

Краткая токсикологическая характеристика пиметрозина. 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 (4 часа) – более 1 800 мг/м^3.

5-гидрокси-пиметрозин

5-гидрокси-6-метил-4(пиридин-3-илметилен)-амино)-4,5-дигидро-(2H)-1,2,4-триазин-3-он (IUPAC)



$C_{10}H_{11}N_5O_2$

Молекулярная масса 233,2.

Область применения препарата. Пиметрозин – инсектицид системного действия класса пиридинов, рекомендуемый для борьбы против сосущих и листогрызущих вредителей на злаковых культурах.

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/дм^3, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности, $P = 0,95$), ±δ, %	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, %
Вода						
Пиметрозин	от 0,0005 до 0,010 вкл.	50	6,9	9,6	19	27
Почва						
Пиметрозин	от 0,005 до 0,1 вкл.	50	4,9	9,8	14	27
5-гидроксипиметрозин	от 0,005 до 0,1 вкл.	50	4,1	8,2	11	23

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/дм^3, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	средняя полнота извлечения,%	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Вода					
Пиметрозин	0,0005	0,0005—0,010	96,6	3,4	± 1,9
Почва					
Пиметрозин	0,005	0,005—0,1	87,7	4,6	± 2,6
5-гидроксипиметрозин	0,005	0,005—0,1	84,3	6,3	± 3,5

2. Метод измерений

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

Анализа проб отфильтрованной воды проводится непосредственным вводом отфильтрованного образца в хроматограф.

Уровни пиметрозина и его метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в пробах почвы определяют после экстракции буферными растворами 10 мМ аммония ацетата последовательно с pH 5,2 и 9,0 с последующим центрифугированием, фильтрованием и разбавлением водой.

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	
Анализатор воды pH-метр, диапазон от 0,0 до 14,0 pH	
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 2-100-2 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; 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки мерные с пришлифованной пробкой вместимостью 10 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Термометр лабораторный, пределы измерения –35—55 °С	ТУ 25-2021.003—88

Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 10, 25, 100, 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

Пиметрозин, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,5 %	
5-Гидрокси-пиметрозин, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,0 %	
Азот осч, из баллона	ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435-73)
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14.2167—84
Аммония ацетат	
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61—75
Натрия гидроокись (гидроксид натрия), хч	ГОСТ 4328—77
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
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный	ГОСТ 25336—82
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	
Сито лабораторное с диаметром отверстий 1 мм	
Стаканы химические с носиком вместимостью 150 и 1 000 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 обращенно-фазным сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 1,8 мкм	
Центрифуга лабораторная, роторная, скорость вращения до 3 500 об./мин с центрифужными стаканами на 100 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 электро-

установками 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 и растворов внесения, смесей для экстракции, 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. Приготовление 10 мМ аммония ацетатных буферов (pH 5,2 и pH 9)

7.2.1. Приготовление 10%-го раствора уксусной кислоты. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, содержащую 50—60 $см^3$ дистиллированной воды, помещают 10 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.2.2. Приготовление 10 мМ аммония ацетатного буфера (pH 5,2). Растворяют 0,77 г аммония ацетата в 800 $см^3$ дистиллированной воды. Доводят pH до (5,2 ± 0,1) 10%-го водным раствором уксусной кислоты (контроль по pH-метру). Переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранят 7 дней при комнатной температуре.

7.2.3. Приготовление 1 М раствора гидроксида натрия. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, содержащую 50—60 $см^3$ дистиллированной воды, помещают 4 г гидроксида натрия, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.2.4. Приготовление 10 мМ аммония ацетатного буфера (pH 9). Растворяют 0,77 г аммония ацетата в 800 $см^3$ дистиллированной воды. Доводят pH до (9,0 ± 0,1) 1М раствором гидроксида натрия (контроль по pH-метру). Переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранят 7 дней при комнатной температуре.

7.3. Подготовка смеси ацетонитрил–вода

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

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

7.4. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку смесью ацетонитрил–вода (1 : 1, по объему), приготовленной по п. 7.3, при скорости подачи растворителя 0,4 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

Перед началом анализа колонку промывают водой при скорости подачи растворителя 0,4 $см^3$/мин в течение 15 мин.

7.5. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.5.1. Исходный раствор пиметрозина для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,0100 г пиметрозина, 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.

7.5.2. Исходный раствор 5-гидрокси-пиметрозина для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,0100 г 5-гидрокси-пиметрозина, 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.

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

7.5.3. Растворы № 1 пиметрозина или 5-гидрокси-пиметрозина для градуировки и внесения (концентрация каждого вещества 1 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ исходного раствора пиметрозина (п. 7.5.1) или 5-гидрокси-пиметрозина (п. 7.5.2) с концентрацией 100 мкг/$см^3$, разбавляют ацетонитрилом до метки, перемешивают. Растворы № 1 хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 1 месяца.

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».

7.5.4. Раствор № 2 пиметрозина или 5-гидрокси-пиметрозина для градуировки и внесения (концентрация каждого вещества 0,01 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают по 1,0 $см^3$ градуировочных растворов № 1 с концентрацией пиметрозина и 5-гидрокси-пиметрозина 1,0 мкг/$см^3$ (п. 7.5.3), доводят до метки смесью ацетонитрил–вода (1 : 1, по объему), приготовленной по п. 7.3, тщательно перемешивают, получают рабочий раствор № 2 с концентрацией пиметрозина и 5-

гидрокси-пиметрозина 0,1 мкг/см^3. Раствор № 2 хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 1 месяца.

7.5.5. Рабочие растворы № 3—9 пиметрозина или 5-гидрокси-пиметрозина для градуировки (концентрация каждого вещества по 0,5—10,0 нг/см^3). В 7 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 5,0; 8,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 2 с концентрацией пиметрозина или 5-гидрокси-пиметрозина 0,01 мкг/см^3 (п. 7.5.4), доводят до метки смесью ацетонитрил–вода (1 : 1, по объему), приготовленной по п. 7.3, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 3—9 с концентрацией пиметрозина или 5-гидрокси-пиметрозина по 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 5,0; 8,0 и 10,0 нг/см^3 соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 1 месяца.

7.6. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (I) от концентрации пиметрозина и 5-гидрокси-пиметрозина в растворе (нг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 7 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ Р 31861—12 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 1743.01—83 «Почва, общие требования к отбору проб», ГОСТ 26950—89 «Почвы. Отбор проб», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051—79 от 21.08.79).

Отобранные пробы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике в темноте не более 5 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С.

Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, образцы почвы просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

Подготовка проб к определению

Образец отфильтрованной воды тщательно перемешивают и анализируют на содержание пиметрозина в условиях хроматографирования по п. 9.3.

9.2. Почва

Экстракция и подготовка проб к определению

Образец почвы массой 5 г помещают в центрифужный стакан вместимостью 100 $см^3$, вносят 2 $см^3$ 10 мМ раствора аммония ацетата pH 5,2 (подготовленного по п. 7.2.2) и 8 $см^3$ ацетонитрила, интенсивно перемешивают в течении 30 с, затем помещают на встряхиватель и оставляют на 30 мин. Полученный экстракт центрифугируют в течение 10 мин со скоростью вращения 3 500 об./мин.

Надосадочную жидкость переносят в мерный цилиндр вместимостью 25 $см^3$.

К осадку в центрифужном стакане добавляют 2 $см^3$ 10 мМ раствора аммония ацетата с pH 9,0 (подготовленного по п. 7.2.4) и 8 $см^3$ ацетонитрила, интенсивно перемешивают в течение течении 30 с, затем помещают на встряхиватель на 30 мин. Экстракт центрифугируют в течение 10 мин со скоростью вращения 3 500 об./мин.

Полученные экстракты объединяют в мерном цилиндре, перемешивают, доводят объем до 20 $см^3$ дистиллированной водой, аликвоту подготовленного экстракта, объемом 4 $см^3$ (соответствует 1 г образца) переносят в пробирку на 10 $см^3$, упаривают (отдувают) при комнатной температуре током воздуха до объема ~1 $см^3$. Доводят дистиллированной водой до объема 10 $см^3$, перемешивают и анализируют на содержание пиметрозина и 5-гидрокси-пиметрозина 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»).

Пиметрозин

Материнский ион (масса/заряд): 218,1.

Дочерние ионы (масса/заряд): 105,1 (количественный расчет), 78,2.

Напряжение на фрагментаторе, В: 106.

Энергия разрушения (соударения), В: 18 (105,1 масса/заряд) и 50 (78,2 масса/заряд).

5-гидрокси-пиметрозин

Материнский ион (масса/заряд): 234,1.

Дочерние ионы (масса/заряд): 105,1 (количественный расчет), 78,2.

Напряжение на фрагментаторе, В: 106.

Энергия разрушения (соударения), В: 22 (105,1 масса/заряд) и 54 (78,2 масса/заряд).

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 обращенно-фазным сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 1,8 мкм.

Температура колонки: 30 °С.

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

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Подвижная фаза – градиентная подача растворителей: растворитель А – ацетонитрил, растворитель В – вода:

Время, мин	Растворитель А, %	Растворитель В, %
0	0	100
0,2	0	100
4,0	25	75
4,2	90	10
5,0	0	100

Линейный диапазон детектирования 0,5—10 пг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 0,5 $нг/см^3$, разбавляют смесью ацетонитрил–вода (1 : 1 по объему) не более чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание пиметрозина в пробах воды и почвы (для почвы с учетом его основного метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в эквиваленте действующего вещества) (X, мг/дм^3, мг/кг) рассчитывают по формуле:

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

A, B – концентрации пиметрозина и 5-гидрокси-пиметрозина 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 (дм^3);

C – коэффициент, учитывающий объем экстракта, взятого для анализа, $C = 1$ (вода), $C = 4$ (почва);

K – коэффициент пересчета содержания метаболита 5-гидрокси-пиметрозина на эквивалент пиметрозина по соотношению молекулярных масс (равен 0,93).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/дм^3 (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:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/дм^3 (мг/кг) при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/дм^3 (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 пиметрозина в пробах воды – менее 0,0005 мг/дм*^{3}, *пиметрозина и 5-гидрокси-пиметрозина в пробах почвы – менее 0,005 мг/кг*»*.

* 0,0005 мг/дм^3 и 0,005 мг/кг – пределы обнаружения в пробах воды и почвы 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 2 образцов концентраций для градуировки, содержание пиметрозина и 5-гидрокси-пиметрозина в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,5 до 10,0 нг/см^3.

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

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

X – концентрация пиметрозина или 5-гидрокси-пиметрозина в пробе при контрольном измерении, нг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора пиметрозина или 5-гидрокси-пиметрозина, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, нг/см^3;

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

Если величина расхождения (А) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины не-

стабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов пиметрозина и 5-гидроксми-пиметрозина, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.6.

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/дм^3 (мг/кг).

Допустимо характеристику погрешности результата анализа при внедрении методики в лаборатории устанавливать с последующим уточнением по мере накопления информации на основе выражения $\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$, где Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3 (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/дм^3 (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

$$|K_к| \leq K, \quad (3)$$

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):

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

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/дм^3 (мг/кг);

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

Определение остаточных количеств пиметрозина в воде, пиметрозина и его основного метаболита 5-гидрокси-пиметрозина в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3341—16

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

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

Подписано в печать 27.12.16

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 72

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