Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания глюфосината аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в семенах и масле подсолнечника, семенах и масле рапса, семенах гороха методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3343—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

Измерение остаточного содержания глюфосината аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в семенах и масле подсолнечника, семенах и масле рапса, семенах гороха методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3343—16

ББК 51.23
И37

И37 **Измерение** остаточного содержания глюфосината аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в семенах и масле подсолнечника, семенах и масле рапса, семенах гороха методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1500—5

1. Разработаны сотрудниками ФГБУ «Федеральный центр оценки безопасности и качества зерна и продуктов его переработки» (Т. А. Корзун, В. Л. Сухова, Н. И. Добрева, С. Д. Добрев, М. Т. Джапаридзе).

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 3 марта 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1500—5

© 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
3 марта 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания глюфосината аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в семенах и масле подсолнечника, семенах и масле рапса, семенах гороха методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания МУК 4.1.3343—16

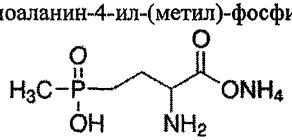
Свидетельство об аттестации № 01.00225/205-63-14.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) для определения массовой доли глюфосината аммония и его основного метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в семенах и масле подсолнечника, семенах и масле рапса, семенах гороха в диапазоне измерений 0,01—10 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Глюфосинат аммония (ГФА)

Аммоний DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфинат



$C_5H_{15}N_2O_4P$

Молекулярная масса: 198,16.

Кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Температура плавления: 215 °С. Давление паров при 20 °С: менее 0,1 МПа. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: вода – 1 370; ацетон – 0,16; этанол – 0,65; этилацетат – 0,14; толуол – 0,14; гексан – 0,2. Вещество стабильно при нормальных условиях хранения, в умеренно кислых и щелочных средах. Коэффициент распределения н-октанол/вода K_{ow} logP < 0,1.

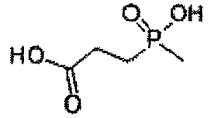
Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс составляет 1 620—2 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 1,26—2,9 мг/м^3 воздуха (аэрозоль). LC_{50} для рыб – 710 мг/дм^3 (96 ч).

Глюфосинат аммония не обладает тератогенным, канцерогенным и мутагенным действием. Он нетоксичен для водорослей, дафний, дождевых червей, пчел, птиц и диких животных.

Область применения препарата. Глюфосинат аммоний – неселективный контактный гербицид с ограниченной системностью, передвигающийся только внутри обработанных листьев. В процессе поступления в растение вещество диссоциирует и в клетках присутствует только глюфосинат свободная кислота. Гербицид используется для уничтожения однолетних и многолетних широколистных и злаковых сорняков в парах, посадках плодовых и цитрусовых культур, ягодных кустарниках и виноградниках путем направленного опрыскивания в период активного роста сорных растений, а также на овощных культурах при довсходовом применении препарата. Применяется в России в качестве десиканта на посевах гороха, подсолнечника, сои, рапса, люцерны и льна-долгунца при норме расхода от 0,15 до 0,35 кг д.в./га.

Глюфосинат аммоний в воде и растениях подвергается разрушению, в результате чего образуется 3-метилфосфино-пропионовая кислота.

3-метилфосфино-пропионовая кислота (МФПК)



$C_4H_9O_4P$

Молекулярная масса: 152,09.

Белый кристаллический порошок. Температура плавления: (288—291) °С. Растворим в воде и метаноле.

Максимально допустимый уровень (МДУ) глюфосината аммония в России: плодовые семечковые и косточковые, ягоды и другие мелкие

фрукты (кроме смородины), цитрусовые, виноград, морковь – 0,2 мг/кг; картофель – 0,5; подсолнечник (семена), рапс (зерно) – 5,0; гречиха, просо, зерно хлебных злаков – 0,4; растительные масла (кроме нерафинированных рапсового и подсолнечного масел) – 0,4; зернобобовые – 3,0; миндаль неочищенный, смородина (черная, красная и белая) – 0,5*; спаржа, тропические и субтропические фрукты (кроме бананов), корнсалат, яйца, мясо млекопитающих (кроме морских животных), лукрепка, сахарная свекла, мясо птицы, нерафинированные рапсовое и подсолнечное масла – 0,05*; бананы – 0,2*; субпродукты пищевых млекопитающих и птицы, кукуруза, древесные орехи – 0,1*; молоко – 0,02*.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и ее составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект		Диапазон измерений массовой доли, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности), ±δ, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости, r, %, $P = 0,95$, $n = 2$	Критическая разность для результатов анализа, полученных в двух лабораториях, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$)
1		2	3	4	5	6	7
ГФА	Семена подсолнечника	От 0,010 до 0,5 вкл.	35	7	11	19	27
		Св. 0,5 до 10 вкл.	20	4	6	11	15
	Масло подсолнечника	От 0,010 до 0,5 вкл.	40	10	15	28	37
		Св. 0,5 до 10 вкл.	22	5	8	14	20

* Временный максимально допустимый уровень (ВМДУ) для импортируемой продукции.

Продолжение табл. 1

1		2	3	4	5	6	7
ГФА	Семена рапса	От 0,010 до 0,5 вкл.	30	5	8	14	20
		Св. 0,5 до 10 вкл.	20	3	5	8	12,5
	Масло рапса	От 0,010 до 0,5 вкл.	23	4	6	11	15
		Св. 0,50 до 10 вкл.	18	3	5	8	12,5
	Семена гороха	От 0,010 до 0,5 вкл.	38	9	14	25	35
		Св. 0,5 до 10 вкл.	22	5	8	14	20
МФПК	Семена подсолнечника	От 0,010 до 0,5 вкл.	30	5	8	14	20
		Св. 0,5 до 10 вкл.	21	4	6	11	15
	Масло подсолнечника	От 0,010 до 0,5 вкл.	30	5	8	14	20
		Св. 0,50 до 10 вкл.	18	3	5	8	12,5
	Семена рапса	От 0,010 до 0,5 вкл.	30	4	6	11	15
		Св. 0,50 до 10 вкл.	18	3	5	8	12,5
	Масло рапса	От 0,010 до 0,5 вкл.	30	5	8	14	20
		Св. 0,5 до 10 вкл.	23	3	5	8	12,5
	Семена гороха	От 0,010 до 0,5 вкл.	30	4	6	11	15
		Св. 0,5 до 10 вкл.	22	3	5	8	12,5

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

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект		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, %
ГФА	Семена подсолнечника	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	58	6,8	± 2,9
			Св. 0,5 до 10 вкл.	60	3,9	± 1,5
	Масло подсолнечника	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	59	9,6	± 3,6
			Св. 0,5 до 10 вкл.	61	4,5	± 1,8
	Семена рапса	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	58	4,6	± 1,7
			Св. 0,5 до 10 вкл.	60	2,8	± 1,7
	Масло рапса	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	59	3,7	± 1,5
			Св. 0,5 до 10 вкл.	61	2,9	± 1,1
	Семена гороха	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	58	8,8	± 3,2
			Св. 0,5 до 10 вкл.	60	4,8	± 1,8
МФПК	Семена подсолнечника	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	60	4,9	± 1,7
			Св. 0,5 до 10 вкл.	65	3,8	± 1,5
	Масло подсолнечника	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	62	4,8	± 2,0
			Св. 0,5 до 10 вкл.	66	2,8	± 1,5
	Семена рапса	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	61	3,7	± 1,4
			Св. 0,5 до 10 вкл.	65	2,8	± 1,3
	Масло рапса	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	63	4,7	± 1,9
			Св. 0,5 до 10 вкл.	65	2,7	± 1,2
	Семена гороха	0,01	От 0,010 до 0,5 вкл.	62	3,6	± 1,4
			Св. 0,5 до 10 вкл.	64	2,8	± 1,2

2. Метод измерений

Методика основана на определении ГФА и его метаболита МФПК с помощью ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим квадропульным детектором (ВЭЖХ-МС/МС) после экстракции веществ из анализируемых образцов подкисленным метанолом и очистки экстрактов от механических примесей.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Система жидкостной хроматографии, оснащенная насосом с возможностью градиентного элюирования и масс-спектрометрическим детектором (тройной квадруполь)	
Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности ± 0,2 мг	ГОСТ OIML R 76-1—11
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 820 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ OIML R 76-1—11
Колбы мерные вместимостью 2-5-2, 2-10-2, 2-25-2, 2-200-2, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1-1-2-0,1; 1-1-2-0,5; 1-1-2-1; 1-1-2-2; 1-2-2-5; 1-2-2-10	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 1-25;1-50; 1-100; 1-500; 1-1000	ГОСТ 1770—74
Дозаторы лабораторные одноканальные переменного объема: 0,5—10 мм^3; 10—100 мм^3; 100—1000 мм^3; 1—10 см^3	ГОСТ 28311—89

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

3.2. Реактивы

Глюфосинат аммоний, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,2 %	
Кислота 3-метилфосфино-пропионовая, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 97,9 %	
Аммоний лимоннокислый, трехзамещенный	ГОСТ 9264—79
Ацетонитрил для хроматографии, осч	ТУ 2634-002-04715285—12
Бура техническая, марка А (натрия тетраборат, десятиводный)	ГОСТ 8429—77

Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Кислота муравьиная, хч	ГОСТ 5848—73
Метанол для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328—77

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства и материалы

Аппарат для встряхивания, орбита до 10 мм	ТУ 64-1-2851—78
Аппарат для встряхивания, до 3 000 об/мин, амплитуда 4 мм	
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Груша резиновая	ТУ 9398-05-0576-9082—03
Деионизатор лабораторный	
Колбы конические (плоскодонные) с пришлифованной пробкой вместимостью 50, 100, 250 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Колонка хроматографическая стальная, заполненная анионообменной смолой, длиной 250 мм, внутренним диаметром 2 мм	
Предколонка хроматографическая стальная, заполненная анионообменной смолой, длиной 50 мм, внутренним диаметром 2 мм	
Ножевая мельница с рабочим объемом не менее 1 $дм^3$	
Мельница лабораторная ЛЗМ	ТУ 1-01-0593-77
Мембранные фильтры микропористые капроновые, размер пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—03
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Пробирки полипропиленовые центрифужные, вместимостью 50 $см^3$ с коническим дном, без юбки устойчивости	
Фильтры мембранные ПТФЭ (политетрафторэтилен) или на основе регенерированной целлюлозы диаметром 13—15 мм; вход – Луер; корпус полипропиленовый; размер пор не более 0,45 мкм	

Центрифуга роторная, скорость вращения до 3 500 об./мин

Шприцы одноразовые медицинские ГОСТ Р ИСО 7886-1—09

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 систему жидкостной хроматографии.

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.

5. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений допускают специалиста, прошедшего обучение, освоившего методику, владеющего техникой, имеющего опыт работы на системе жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием и подтвердившего соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

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 системе жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: подготовка, приготовление градуировочных растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ,

кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции.

7.1. Подготовка посуды

Перед анализом посуду обрабатывают деионизированной водой не менее двух раз и сушат при температуре (200 ± 10) °С. Не рекомендуется менять емкости для хранения элюентов с целью избежать повышения содержания ионов натрия.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. Приготовление водного раствора лимоннокислого аммония (концентрация 1 моль/дм^3)

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают навеску (12,16 ± 0,01) г лимоннокислого аммония, добавляют 30—35 см^3 деионизированной воды, перемешивают до полного растворения (при необходимости – с помощью ультразвуковой бани), раствор охлаждают до комнатной температуры, доводят объем водой до метки, перемешивают. Срок хранения – 3 месяца при температуре 4—8)°С.

7.2.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ – элюент В

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают (300—350) см^3 деионизированной воды, вносят 500 мм^3 раствора лимоннокислого аммония с молярной концентрацией 1 моль/дм^3 (п. 7.2.1), доводят объем до метки, перемешивают, профильтровывают через мембранный фильтр. Срок хранения – 2 недели.

7.2.3. Приготовление раствора тетрабората натрия (концентрация 0,1 моль/дм^3)

В мерную колбу вместимостью 200 см^3 помещают (7,62 ± 0,01) г десятиводного тетрабората натрия, добавляют 160—180 см^3 деионизированной воды, перемешивают до полного растворения (при необходимости – с помощью ультразвуковой бани), охлаждают, доводят водой до метки, перемешивают, отфильтровывают через мембранный фильтр. Срок хранения – 1 месяц.

7.2.4. Приготовление раствора гидроксида натрия (концентрация 0,03 моль/дм^3)

В мерную колбу вместимостью 200 см^3 помещают (0,24 ± 0,01) г гидроксида натрия, добавляют 160—180 см^3 деионизированной воды, перемешивают до полного растворения (при необходимости – с помощью ультразвуковой бани), охлаждают, доводят объем водой до метки,

перемешивают, отфильтровывают через мембранный фильтр. Раствор хранят в герметичной посуде при комнатной температуре. Срок хранения – 1 месяц.

7.2.5. Приготовление смеси растворителей вода–метанол для приготовления исходного градуировочного раствора ГФА (объемное соотношение 2 : 1)

В коническую колбу вместимостью 50 $см^3$ с помощью мерного цилиндра последовательно приливают 20 $см^3$ деионизированной воды и 10 $см^3$ метанола. Перемешивают и охлаждают до комнатной температуры. Смесь готовят непосредственно перед приготовлением градуировочного раствора ГФА.

7.2.6. Приготовление раствора для экстракции (смесь муравьиная кислота–метанол, объемное соотношение 1 : 100)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ наливают 300—400 $см^3$ метанола. Добавляют 10 $см^3$ муравьиной кислоты. Объем доводят до метки, перемешивают. Раствор хранят в герметичной посуде при комнатной температуре. Срок хранения – 3 месяца.

7.3. Кондиционирование, промывка и консервация колонок для ВЭЖХ

7.3.1. Кондиционирование колонок для ВЭЖХ

Кондиционирование хроматографических колонок проводят после длительного хранения и после продолжительной работы (100—200 последовательных вводов).

7.3.1.1. Колонки промывают раствором гидроксида натрия с молярной концентрацией 0,03 моль/$дм^3$ со скоростью подачи раствора 0,2 $см^3$/мин в течение 60—90 минут.

7.3.1.2. Колонки промывают элюентом А (деионизированной водой) со скоростью подачи подвижной фазы 0,2 $см^3$/мин в течение 45—60 минут.

7.3.1.3. Устанавливают колонки в хроматографическую систему и запускают ее на полный режим градиента по п. 9.2. Проводят 3—4 последовательных ввода градуировочных растворов.

ВНИМАНИЕ: При выполнении операций 7.3.1.1 и 7.3.1.2 поток элюентов не должен поступать в масс-спектрометр.

7.3.2. Промывка колонок

Промывку проводят при загрязнении колонки и предколонки, выражающемся в поднятии давления в начале анализа свыше 1600 *psi* (110 *bar*).

7.3.2.1. Колонки промывают *обратным током* деионизированной водой (элюент А) со скоростью подачи подвижной фазы 0,1—0,15 $см^3$/мин в течение 60—90 минут. В процессе промывания колонки и предколонки постоянно контролируют давление.

7.3.2.2. Колонки промывают *обратным током* метанолом (либо ацетонитрилом) со скоростью подачи растворителя 0,2 $см^3$/мин в течение 60 минут.

7.3.2.3. Колонки промывают *обратным током* деионизированной водой (элюент А) со скоростью подачи подвижной фазы 0,2 $см^3$/мин в течение 45—60 минут.

7.3.2.4. Устанавливают колонки в хроматографическую систему и запускают ее на полный режим градиента по п. 9.2. Проводят 1—2 последовательных ввода градуировочных растворов или метанола.

ВНИМАНИЕ: При выполнении операций 7.3.2.1, 7.3.2.2 и 7.3.2.3 поток элюентов не должен поступать в масс-спектрометр.

7.3.3. Консервация колонок

Консервацию колонок проводят при остановке работы на продолжительный период времени (более двух недель).

7.3.3.1. Колонку и предколонку промывают *обратным током* деионизированной водой со скоростью подачи подвижной фазы 0,1—0,15 $см^3$/мин в течение 60—90 минут. В процессе промывки контролируют давление.

7.3.3.2. Колонки промывают *обратным током* метанолом (либо ацетонитрилом) со скоростью подачи растворителя 0,2 $см^3$/мин в течение 60 минут.

7.3.3.3. Колонки промывают деионизированной водой со скоростью подачи 0,2 $см^3$/мин в течение 45—60 минут.

7.3.3.4. Колонку и предколонку промывают раствором тетрабората натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/$дм^3$ со скоростью подачи раствора 0,2 $см^3$/мин в течение 45—60 минут.

7.3.3.5. Колонку и предколонку хранят под раствором тетрабората натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/$дм^3$.

Примечание. Условия 7.3.3.4 и 7.3.3.5 относятся только к колонкам, указанным в примечании к п. 3.3. В случае использования аналогов, консервацию колонки и предколонки проводят с учетом рекомендаций фирмы-производителя.

ВНИМАНИЕ: При проведении операций по консервации колонок поток элюентов не должен поступать в масс-спектрометр.

7.4. Приготовление градуировочных растворов

7.4.1. Приготовление исходных растворов

7.4.1.1. Основной раствор ГФА (концентрация 1 000 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают (0,025 ± 0,001) г ГФА, добавляют 15—20 см^3 смеси вода–метанол (п. 7.2.5), перемешивают и доводят объем до метки этим же растворителем, вновь перемешивают. Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 3 месяцев.

7.4.1.2. Основной раствор МФПК (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают (0,005 ± 0,001) г *МФПК*, добавляют 30—40 см^3 ацетонитрила, перемешивают (при необходимости – с помощью ультразвуковой бани), охлаждают, доводят до метки этим же растворителем, вновь перемешивают. Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 3 месяцев.

7.4.2. Приготовление градуировочных растворов

7.4.2.1. Исходный раствор № 1 (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 ГФА (п. 7.4.1.1) и 1 см^3 раствора МФПК (п. 7.4.1.2). Разбавляют до метки раствором для экстракции (п. 7.2.6), перемешивают. Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С не более одного месяца.

7.4.2.2. Исходный раствор № 2 (концентрация 1 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 5 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 (п. 7.4.2.1). Доводят до метки раствором для экстракции (п. 7.2.6), перемешивают. Раствор хранят в холодильнике при температуре (4—6) °С не более одной недели.

7.4.2.3. Рабочие растворы № 3—8 для градуировки (концентрация каждого вещества по 0,01—0,5 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 5 см^3 помещают по 0,05 см^3, 0,125 см^3, 0,25 см^3 и 0,5 см^3 исходного раствора № 2 (п. 7.4.2.2), доводят до метки раствором для экстракции (п. 7.2.6), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 3—6 с концентрацией ГФА и МФПК по 0,01; 0,025; 0,05 и 0,1 мкг/см^3 соответственно.

В 2 мерные колбы вместимостью 5 см^3 помещают 0,1 см^3 и 0,2 см^3 исходного раствора № 1 (п. 7.4.2.1), доводят до метки раствором для экстракции (п. 7.2.6), тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 7 и 8 концентрацией ГФА и МФПК по 0,2 мкг/см^3 и 0,5 мкг/см^3 соответственно.

Градуировочные растворы № 3—8 готовят непосредственно перед использованием.

7.5. Установка градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику по каждому аналиту, выражающую зависимость площади пика (УЕИ·с) от массовой концентрации ГФА и МФПК в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 6 градуировочным растворам № 3—8 (п. 7.4.2.3).

В инжектор хроматографа вводят 10 мм^3 каждого градуировочного раствора № 3—8 и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 2 параллельных измерений. По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производят в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79) и правилами, определенными ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и ГОСТ 8988—77 «Масло рапсовое. ТУ».

Семена подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в тканевых мешочках в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре не более 6 месяцев. Пробы масла (помещенные в стеклянные флаконы) хранят в холодильнике в течение 3 месяцев. Для длительного хранения измельченные пробы зерна (аналитические образцы массой 20 г) замораживают и хранят при температуре –18 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция ГФА и МФПК

Образец измельченной пробы массой 5 г помещают в центрифужную пробирку вместимостью 50 см^3, добавляют 10 см^3 раствора для экстракции (п. 7.2.6), интенсивно встряхивают (до полного смачивания пробы), помещают на аппарат для встряхивания на 60 мин. Далее пробирки с пробами помещают в центрифугу и центрифугируют 5 мин при 3 000 об./мин. Отбирают надосадочную жидкость, фильтруют и анализируют на содержание ГФА и МФПК по п. 9.2.

9.2. Условия хроматографирования

Измерения проводят при следующих режимных параметрах хроматографической системы.

Жидкостный хроматограф, состоящий из дегазатора, автосамплера, бинарного насоса, термостата, совмещенный с масс-спектрометрической системой – тройной квадруполь (ВЭЖХ-МС/МС).

Разделительная ионообменная хроматографическая колонка стальная, заполненная анионообменной смолой, длиной 250 мм, внутренним диаметром 2,0 мм.

Ионообменная предколонка стальная, заполненная анионообменной смолой длиной 50 мм, внутренним диаметром 2,0 мм.

Температура колонок: 40 °С.

Режим элюирования – градиентный.

Элюент А: вода деионизированная.

Элюент В: 1 мМоль водный раствор трехзамещенного цитрата аммония по п. 7.2.2.

Градиент:

Таблица 3

% А	Поток, $см^3$/мин	Время, мин
100	0,25	0
0	0,25	10
0	0,25	20
100	0,25	20,1
100	0,25	30

Объем вводимой пробы: 10 $мм^3$.

Ориентировочное время удерживания: ГФА – 3,2 мин;
МФПК – 11,1 мин.

Условия детектирования.

Детектор: квадрупольный тандемный масс-спектрометр.

Тип ионизации: электроспрей – отрицательный режим.

Тип сканирования: множественный мониторинг реакций (ММР).

Масс-спектрометрические (МС/МС) параметры для определения ГФА и его метаболита МФПК:

Соединение	ММР – переходы, *m/z*
ГФА	180/63, 180/85, 180/95
МФПК	151/63, 151/107, 151/133

Каждый экстракт хроматографируют дважды.

Устанавливают площади пиков вещества (УЕИ·с), находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию ГФА и МФПК в хроматографируемом растворе.

Экстракты образцов, при анализе которых площадь пиков больше, чем площадь пика градуировочного раствора № 8 с концентрацией 0,5 $мкг/см^3$, разбавляют раствором для экстракции по п. 7.2.6, но не более чем в 10 раз.

10. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации прибора.

Содержание глюфосинат аммония в пробах семян и масла подсолнечника, семян и масла рапса, семян гороха с учетом его основного метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в эквиваленте действующего вещества (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A + 1{,}303 \cdot B) \cdot V \cdot K \cdot 100}{m \cdot e}, \text{ где} \qquad (1)$$

A, B – концентрации глюфосинат аммония и 3-метилфосфино-пропионовой кислоты соответственно, найденные по градуировочным графикам в соответствии с величинами площадей хроматографических пиков, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемого образца, г;

K – коэффициент разведения пробы (п. 9.2);

e – полнота извлечения, учитывающая все процедуры подготовки пробы (табл. 2).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли ГФА (МФПК), млн$^{-1}$ (мг/кг);

r – значение предела повторяемости, % (табл. 1).

Если условие (2) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm 0{,}01 \cdot \delta \cdot \bar{X})$, при $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое значение результатов *n* определений, признанных приемлемыми, млн$^{-1}$ (мг/кг);

± δ – границы относительной погрешности измерений, % (табл. 1).

В случае если полученный результат измерений менее нижней границы диапазона измерений, то результат анализа представляют в виде:

«массовая доля глюфосината аммония (МФПК) менее 0,01мг/кг».

13. Контроль качества результатов измерений

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки по каждому из анализируемых компонентов проводят перед каждой серией измерений, анализируя три свежеприготовленных градуировочных раствора № 3, 5, 7 (0,01; 0,05 и 0,2 мкг/см^3), а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией анализируемых компонентов в начале, середине и в конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца выполняется условие:

$$\frac{\left|S_{изм} - S_{гр}\right|}{S_{гр}} \cdot 100 \leq K_{гр}, \text{ где} \qquad (3)$$

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика ГФА и МФПК в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, УЕИ · с;

$K_{гр}$ – норматив контроля, $K_{гр} = 0{,}5 \cdot \delta$;

± δ – границы относительной погрешности, % (табл. 1).

Если условие стабильности не выполняется только для одного образца, то повторно анализируют этот образец для исключения результата, содержащего грубую ошибку.

Если градуировка нестабильна, выясняют причины нестабильности и повторяют контроль стабильности с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново.

13.2. Внутрилабораторный оперативный контроль

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики проводят по ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 («Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»),

используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по п. 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 и показателя правильности по п. 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—02. Проверку стабильности выполняют с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля стабильности результатов выполнения измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений

Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ по формуле:

$$\frac{2 \cdot \left| C_{cp1} - C_{cp2} \right| \cdot 100}{(C_{cp1} + C_{cp2})} \leq CD_{0,95}, \text{ где} \qquad (4)$$

C_{cp1}, C_{cp2} – средние значения массовой доли ГФА (МФПК), полученные в первой и второй лабораториях, млн$^{-1}$ (мг/кг);

$CD_{0,95}$ – значение критической разности, % (табл. 1).

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, проводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если критическая разность превышена, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 (п. 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 (п. 5.3.4).

Измерение остаточного содержания глюфосината аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в семенах и масле подсолнечника, семенах и масле рапса, семенах гороха методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием

Методические указания
МУК 4.1.3343—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 73

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