

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

**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**

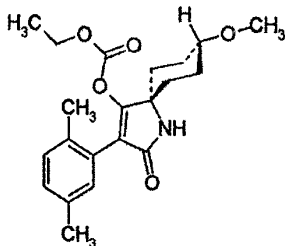
Свидетельство об аттестации № РОСС RU.0001.310430/0243.26.10.15.

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 спиротетрамат-енола в семенах и масле сои в диапазоне 0,01—0,2 мг/кг (каждого вещества) соответственно.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Спиротетрамат (ВУИ 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.

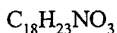
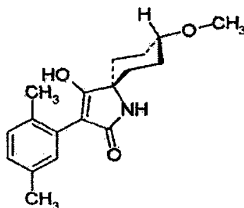
Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления: 142 °С. Давление паров (Па): $5,6 \cdot 10^{-9}$ (при 20 °С); $1,5 \cdot 10^{-8}$ (при 25 °С); $1,5 \cdot 10^{-6}$ (при 50 °С). Плотность: 1,22. Растворимость в органических растворителях (г/дм³) при 20 °С: ацетон – 100—120; дихлорметан – более 600; этилацетат – 67; этанол – 44; толуол – 60; *n*-октанол – 140; *n*-гексан – 0,055. Растворимость в воде (мг/дм³) при 20 °С: 33,5 (рН 4); 29,9 (рН 6,9); 19,1 (рН 9). Коэффициент распределения *n*-октанол–вода – $\log K_{ow} = 2,51$ (рН 4, 7); 2,50 (рН 9).

Основным продуктом метаболической деградации спиротетрамата в растениях, воде, почве является спиротетрамат-енол (*ВУИ 08330-енол*).

Краткая токсикологическая характеристика спиротетрамата. Острая пероральная токсичность (LD₅₀) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD₅₀) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC₅₀) для крыс (4 ч) – 4,18 мг/дм³.

Спиротетрамат-енол (*ВУИ 08330-енол*)

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



Молекулярная масса: 301,39.

Бесцветное кристаллическое вещество, удовлетворительно растворимое в воде: 2,7 г/дм³ (рН 7). Коэффициент распределения *n*-октанол–вода – $\log K_{ow} = 0,3$ (рН 7). Является слабой кислотой: рKa = 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. Метрولوجические 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, $P = 0,95$), $\pm \delta$, %	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						
Спиротетраграмат	0,01—0,2	50	4,2	5,9	12	17
Спиротетраграмат-енол	0,01—0,2	50	2,5	3,5	7	10
Соевое масло						
Спиротетраграмат	0,01—0,2	50	2,7	3,8	8	11
Спиротетраграмат-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					
Спиротетраграмат	0,01	0,01—0,2	84,6	12,5	$\pm 6,65$
Спиротетраграмат-енол	0,01	0,01—0,2	86,4	15,7	$\pm 8,35$
Соевое масло					
Спиротетраграмат	0,01	0,01—0,2	79,3	3,8	$\pm 2,02$
Спиротетраграмат-енол	0,01	0,01—0,2	81,5	3,0	$\pm 1,60$

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 C18, 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 tandemным 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 $\pm 0,1$ мг	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные аналитические с пределом взвешивания 420 г и пределом допустимой погрешности $\pm 0,01$ 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 см³

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 см³

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 см³

Шприцы медицинские одноразовые с разъемом Луера вместимостью 10 и 20 см³

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—250 мм³

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/см²), 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 дм³ ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 часа, после чего перегоняют. Непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм³ ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.2. Приготовление ацетонитрила, подкисленного муравьиной кислотой

В мерную колбу вместимостью 1 000 см³ помещают 500 см³ ацетонитрила, вносят 0,22 см³ 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 см³ помещают 500 см³ ацетонитрила, вносят 0,22 см³ муравьиной кислоты, добавляют 500 см³ 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 см³/мин до установления стабильной базовой линии.

7.5. Приготовление смесей растворителей для экстракции

7.5.1. В мерную колбу вместимостью 1 000 см³ помещают 800 см³ ацетонитрила, 200 см³ деионизованной воды, 0,22 см³ муравьиной кислоты, перемешивают.

7.5.2. В мерную колбу вместимостью 1 000 см³ помещают 200 см³ ацетонитрила, 800 см³ деионизованной воды, 0,22 см³ 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 см³. Патроны готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.7.1. Исходный раствор спиротетрамата для градуировки (концентрация 100 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,0100 г спиротетрамата, добавляют 50—70 см³ 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/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,0100 г спиротетрамат-енола, добавляют 50—70 см³ 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/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 1 см³ исходного раствора спиротетрамата (п. 7.7.1) или спиротетрамат-енола (п. 7.7.2) с концентрацией 100 мкг/см³, разбавляют ацетонитрилом до метки, перемешивают.

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

Растворы с концентрацией 1 мкг/см³ 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/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают по 1,0 см³ градуировочных растворов № 1 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола 1,0 мкг/см³ (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 $0,01 \text{ мкг/см}^3$.

Раствор № 2 хранят в холодильнике при температуре $(4 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 3 недель.

7.7.5. Рабочие растворы № 3—7 спиротетрамата и спиротетрамат-енола для градуировки (концентрация каждого вещества по $0,1—2,0 \text{ нг/см}^3$). В 3 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по $1,0; 2,0$ и $10,0 \text{ см}^3$ градуировочного раствора № 2 с концентрацией спиротетрамата и спиротетрамат-енола $0,01 \text{ мкг/см}^3$ (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 $1,0 \text{ нг/см}^3$ 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 $0,01 \text{ мкг/см}^3$ (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 $2,0 \text{ нг/см}^3$ соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре $(4 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ 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 см³, добавляют 40 см³ 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. Расщепительный остаток на фильтре промывают 20 см³ смеси для экстракции, подготовленной по п. 7.5.1 (дважды по 10 см³). 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 см³, добавляют 40 см³ 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 см³, отбирая с помощью пипетки, вносят в раствор 20 см³ 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 см³/мин), пропуская раствор до верхнего края сорбента. После нанесения пробы патрон дополнительно промывают еще 100 см³ смеси для экстракции, подготовленной по п. 7.5.1 (4 раза по 25 см³). Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерную колбу вместимостью 200 см³, доводят до метки смесью для экстракции, подготовленной по п. 7.5.1, перемешивают.

К 1 см³ подготовленного экстракта добавляют 4 см³ 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 tandemным 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 дм³/мин.

Температура газа 1: 325 °С.

Скорость газа 2 (азот): 12 дм³/мин.

Температура газа 2: 400 °С.

Температура квадруполов (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 C18, зернение 1,8 мкм.

Температура колонки: 30 °С.

Скорость потока элюента: 0,4 см³/мин.

Объем вводимой пробы: 5 мм³.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (1 : 1 по объему, 0,22 см³ муравьиной кислоты на 1 дм³ смеси).

Линейный диапазон детектирования: 0,5—10 пг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 2,0 нг/см³, 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/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

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:

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

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:

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

\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/см³.

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/см³;

C – известная концентрация градуировочного раствора спиротетрамата и спиротетрамат-енола, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, нг/см³;

B – норматив контроля градуировочной характеристики для спиротетрамата и спиротетрамат-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_0 должна удовлетворять условию:

$$C_0 \geq \Delta_{\bar{x}, \bar{x}} + \Delta_{\bar{x}, \bar{x}'}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{\bar{x}, \bar{x}}$ ($\pm \Delta_{\bar{x}, \bar{x}'}$) – 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:

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

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_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C_0, \text{ где}$$

\bar{X}' , \bar{X} , C_0 – 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:

$$K = \sqrt{\Delta_{\bar{x}, \bar{x}'}^2 + \Delta_{\bar{x}, \bar{x}}^2}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры (K_n) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_n| \leq K, \quad (2)$$

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 высокочувствительной 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

Тираж 125 экз.

Печ. л. 1,25
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