

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ
НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЦЕНТР КАЧЕСТВА И
СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ И КОРМОВ»
(ФГБУ «ВГНКИ»)**

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора,
руководитель Испытательного центра



М.А. Гергель М.А. Гергель

«*21*» *января* 202*1* г.

**Методические указания по определению пестицидов (включая
фунгициды, инсектициды и акарициды) в пищевой продукции и кормах с
использованием метода газовой хроматографии с масс-спектрометрическим
детектированием.**

МУ А-1/087

Москва

2021

СВЕДЕНИЯ О РАЗРАБОТКЕ

РАЗРАБОТАНА:: федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» г. Москва (А. И. Кожушкевич, А.А. Шелепчиков, К.А. Турбабина, В.В. Овчаренко).

Телефон/факс: (499) 253-14-68/ (499) 253-14-91

E-mail: vgnki@fsvps.gov.ru

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

АТТЕСТОВАНА: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»

Номер аттестата аккредитации юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений: аттестат аккредитации в области обеспечения единства измерений № РОСС.RU.0001.310354

Свидетельство об аттестации № 310354-0078/2022 от 21.01.2022 г.

Регистрационный номер методик измерений по Федеральному реестру ФР.1.31.2022.42893

Содержание

1 Область применения.....	4
2 Сущность метода.....	4
3 Нормативные ссылки	4
4 Метрологические характеристики	5
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы.....	10
6 Требования безопасности и охраны окружающей среды.....	13
7 Требования к квалификации операторов	13
8 Условия выполнения измерений.....	13
9 Отбор и хранение проб	13
10 Подготовка к выполнению измерений	14
11 Подготовка проб	15
12 Выполнение измерений	16
12 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории ...	21
Библиография.....	21

1 Область применения

Настоящие методические указания устанавливают метод определения массовой доли пестицидов в пищевой продукции (мясо, мясо птицы, субпродукты, молоко, яйца, рыба и нерыбные объекты промысла, мед), продуктах пчеловодства, подморе пчёл, зерне и кормах с применением хромато-масс-спектрометрии и предназначен для организаций и учреждений, независимо от их организационно-правовой формы, осуществляющих контроль безопасности пищевой продукции и кормов.

Диапазон измеряемой массовой доли индивидуальных соединений пестицидов от 0,01 мг/кг до 0,5 мг/кг.

Определяемые соединения пестицидов: 2,4 – Динитротолуол, 2,6 – Динитротолуол, 2,6-ди-трет-бутил-п-крезол, Алахлор, Альдрин, Аметрин, Амитраз, Ацетохлор, Бета-цифлутрин, Бифентрин, Бромпропилат, Вернолат, Винклозолин, Гексазинон, Гексахлорциклопентадиен, Гептахлор эпоксид изомер Б, Гептахлор, Гексахлорбензол, Альфа-гексахлорциклогексан, Бета-гексахлорциклогексан, Гамма-гексахлорциклогексан, ДДД, ДДЕ, ДДТ, Дельтаметрин, Диазинон, Дильдрин, Дихлорфос, Диэтилтолуамид, Ипродион, Карбарил, Карбофуран, Кумафос, Лямбда-цигалотрин, Малатион, Мевинфос, Метоксихлор, Нитрофен, Норфлуразон, Паратион, Паратион-метил, Пендиметалин, Перметрин, Прометрин, Пронамид, Пропетамфос, Пропоксур, Процимидон, Тау-флувалинат, Тебукаоназол, Тебутиурон, Тебутрин, Тетрадифон, Тетрахлорвинфос, Токлофос-метил, Триадимефон, Трибуфос, Трифлуралин, Фенвалерат, Фипронил, Флуметрин, Флуридон, Фосмет, Фосфамидон, Хлорбензилат, Хлордан, Хлордимерформ, Хлорпирифос, Хлорпирифос-метил, Хлорпрофам, Хлорфенвинфос, Циперметирин, Эндосульфат сульфат, Эндрин, Эсфенвалерат, Этион, Этопроп, Этридазол.

2 Сущность метода

Метод основан на извлечении пестицидов из анализируемой пробы ацетонитрилом с последующей очисткой методом дисперсионной твердофазной экстракции, концентрировании экстракта и количественном определении пестицидов газожидкостной хроматографией с масс-спектрометрическим детектором..

3 Нормативные ссылки

В настоящих методических указаниях использованы нормативные ссылки на следующие документы:

ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества.

Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.019-2017 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009-83 ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды.

Размещение и обслуживание

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 9293-74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

Примечание – При пользовании настоящим документом на методику измерений целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим документом на методику измерений следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку

4 Метрологические характеристики

Настоящая методика измерений обеспечивает выполнение измерений массовой доли пестицидов с относительной расширенной неопределенностью результатов аналитических измерений при коэффициенте охвата $k=2$, указанной в таблице 1.

Таблица 1

Наименование пестицида	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг (млн ⁻¹)	Значение относительной расширенной неопределенности* $\pm U$, % при коэффициенте охвата $k = 2$, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости), σ , %	Предел повторяемости i , г, % (при $P = 0,95$, $n = 2$)	Показатель воспроизводимости и (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %
2,4-Динитротолуен	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	20	55	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	20	12	34	10
2,6-Динитротолуен	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	21	59	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	18	13	36	8
2,6-Ди-tert-бутил-п-крезол	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	22	60	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	20	12	33	9
Алахлор	от 0,01 до 0,05 вкл.	29	24	68	13
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	17	14	38	8
Альдрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	20	55	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	21	11	31	10
Аметрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	37	20	54	17
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	19	12	32	9
Амитраз	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	19	54	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	18	13	36	8
Ацетохлор	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	21	59	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	19	13	35	9
бета-Цифлутрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	22	60	15

	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	11	32	9
Бифентрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	36	21	59	17
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	13	36	10
Бромпропилат	от 0,01 до 0,05 вкл.	29	22	62	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	17	11	31	8
Вернолат	от 0,01 до 0,05 вкл.	29	22	61	13
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	12	33	9
Винклозолин	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	21	59	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	12	33	8
Гексазинон	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	22	60	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	22	12	35	10
Гексахлорциклопентадиен	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	18	50	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	17	14	37	8
Гептахлор эпоксид Б	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	22	60	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	36	9
Гептахлор	от 0,01 до 0,05 вкл.	28	23	63	13
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	13	35	9
Гексахлорбензол	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	20	55	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	14	38	9
ГХЦГ-альфа	от 0,01 до 0,05 вкл.	27	23	64	13
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	12	34	10
ГХЦГ-бета	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	22	61	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	21	11	31	10
ГХЦГ-гамма	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	21	58	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	12	32	9
ДДД	от 0,01 до 0,05 вкл.	29	21	59	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	14	37	8
ДДЕ	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	20	55	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	36	9
ДДТ	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	19	53	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	12	34	9

Дельтаметрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	20	54	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	18	13	36	8
Диазинон	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	23	64	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	19	13	35	9
Дильдрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	23	63	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	18	12	34	8
Дихлорфос	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	13	36	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	20	11	32	10
Ипродион	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	22	61	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	19	13	36	9
Карбарил	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	22	62	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	19	11	30	9
Карбофуран	от 0,01 до 0,05 вкл.	29	17	47	13
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	21	13	36	10
Кумафос	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	19	52	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	16	12	34	7
Лямбда-цигалотрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	21	57	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	19	11	31	9
Малатион	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	24	67	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	19	11	32	9
Мевинфос	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	20	56	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	20	11	29	9
Метоксихлор	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	21	57	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	17	13	35	8
Н,Н-Диэтил-м-толуамид	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	20	55	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	18	12	34	8
Нитрофен	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	22	61	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	20	12	35	9
Норфлуразон	от 0,01 до 0,05 вкл.	35	18	51	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл.	17	14	38	8
Паратион	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	21	57	14

	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	14	39	9
Паратион-метил	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	21	58	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	21	11	30	10
Пендиметалин	от 0,01 до 0,05 вкл.	35	20	57	17
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	13	37	9
Перметрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	20	56	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	35	9
Прометрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	21	59	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	14	37	9
Пронамид	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	19	52	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	11	31	9
Пропетамфос	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	21	59	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	14	38	9
Пропоксур	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	20	55	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	12	34	9
Процимидон	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	21	59	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	22	13	37	10
Тау-флувалинат	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	21	58	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	11	31	9
Тебуконазол	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	22	61	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	12	35	8
Тебутиурон	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	23	64	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	12	34	9
Тебутрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	19	52	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	35	9
Тетрадифон	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	20	56	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	12	34	9
Тетрахлорвинфос	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	19	52	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	36	9
Токлофос-метил	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	23	63	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	21	12	35	10

Триадимефон	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	20	56	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	37	9
Трибуфос	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	23	64	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	12	34	8
Трифлуралин	от 0,01 до 0,05 вкл.	36	22	61	17
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	13	35	8
Фенвалерат	от 0,01 до 0,05 вкл.	35	22	60	17
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	13	35	9
Фипронил	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	22	61	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	11	31	9
Флуметрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	23	64	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	12	34	9
Флуридон	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	22	60	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	35	9
Фосмет	от 0,01 до 0,05 вкл.	36	20	55	17
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	13	35	9
Фосфамидон	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	23	65	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	12	33	9
Хлорбензилат	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	22	60	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	35	9
Хлордан	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	22	61	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	21	11	30	10
Хлордимерформ	от 0,01 до 0,05 вкл.	34	19	53	16
	св. 0,05 до 0,5 вкл	17	13	37	8
Хлорпирифос	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	22	61	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	12	34	9
Хлорпирифос-метил	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	22	60	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	17	14	40	8
Хлорпрофам	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	20	55	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	12	33	9
Хлорфенвинфос	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	22	61	15

	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	13	35	9
Циперметрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	31	22	62	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	17	12	33	8
Эндосульфат сульфат	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	20	56	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	12	34	9
Эндрин	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	21	59	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	19	13	35	9
Эсфенвалерат	от 0,01 до 0,05 вкл.	33	21	58	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	12	34	8
Этион	от 0,01 до 0,05 вкл.	30	25	68	14
	св. 0,05 до 0,5 вкл	18	11	30	9
Этопроп	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	20	56	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	17	14	39	8
Этридазол	от 0,01 до 0,05 вкл.	32	19	53	15
	св. 0,05 до 0,5 вкл	20	13	35	9

*-Соответствует относительному значению точности при доверительной вероятности P=0,95

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

5.1 Средства измерений и вспомогательное оборудование

- Хроматограф газовый с масс-спектрометрическим детектором высокого или низкого разрешения, позволяющий вести регистрацию отдельных ионов с заданными массами в диапазоне 50-850 а.е.м. при ионизации пробы в режиме электронного удара или химической ионизации и оборудованный автоинжектором (TSQ8000, Thermo с хроматографом Tracer1310 регистрационный номер записи в Федеральном инф. фонде № 64322-16);
- Компьютер с установленным программным обеспечением XCalibur (Thermo, США)
- Кварцевые капиллярные хроматографические колонки с неподвижной неполярной фазой типа DB-5;
- Весы неавтоматического действия MS105DU (Mettler Toledo Швейцария, регистрационный номер записи в Федеральном инф. фонде № 63293-16)
- Дозаторы механические одноканальные с варьируемым объемом дозирования (1-20) мм³, (10-100) мм³, (200-1000) мм³, (1000 - 5000) мм³ по ГОСТ 28311;
- Мерные колбы 1-10-1 по ГОСТ 1770;
- Встряхиватель (шейкер) вортексного типа, с скоростью вращения 150-2000 об/мин;
- Центрифуга лабораторная с возможной скоростью вращения ротора 4000 об/мин;
- Термостатируемый нагревательный модуль с системой отдувки растворителей инертным газом Reacti-Therm, Pierce (США);

- Холодильник бытовой, обеспечивающий поддержание температуры в холодильном отделении от 4 °С до 10 °С, в морозильном отделении не выше минус 18 °С;
- Пробирка центрифужная пластиковая, объемом 15 см³.
- Система получения деионизированной воды высокой чистоты с удельным сопротивлением не более 18 МОм·см, (Milipore, Германия).

5.2 Реактивы и материалы

- Набор для твердофазной экстракции включающий в себя: 6 г сульфата магния и 1,5 г ацетата натрия (Supelco, США);
- Набор для твердофазной экстракции включающий в себя: 50 мг сорбента С-18, 150 мг сульфата магния, 50 мг сорбента PSA (Supelco, США);
- Гелий газообразный, марки «6.0» ТУ [1] ;
- Азот газообразный, марки ОСЧ, ГОСТ 9293;
- ацетонитрил для ВЭЖХ с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %;
- вода деионизированная для ВЭЖХ, полученная с использованием системы производства воды высокой чистоты;

5.3 Стандарты пестицидов с содержанием основного вещества не менее 95%:

- 2,4 – Динитротолуол
- 2,6 – Динитротолуол;
- 2,6-ди-трет-бутил-п-крезол;
- Алахлор;
- Альдрин;
- Аметрин;
- Амитраз;
- Ацетохлор;
- Бета-цифлутрин;
- Бифентрин;
- Бромпропилат;
- Вернолат;
- Винклозолин;
- Гексазинон;
- Гексахлорциклопентадиен;
- Гептахлор эпоксид, изомер Б;
- Гептахлор;
- Гексахлорбензол;
- Альфа-гексахлорциклогексан;
- Бета-гексахлорциклогексан;
- Гамма-гексахлорциклогексан;
- ДДД;
- ДДЕ;
- ДДТ;
- Дельтаметрин;
- Диазинон;
- Дильдрин;
- Дихлорфос;
- Диэтилтолуамид;

- Ипродион;
- Карбарил;
- Карбофуран;
- Кумафос;
- Лямбда-цигалотрин;
- Малатион;
- Мевинфос;
- Метоксихлор;
- Нитрофен;
- Норфлуразон;
- Паратион;
- Паратион-метил;
- Пендиметалин;
- Перметрин;
- Прометрин;
- Пронамид;
- Пропетамфос;
- Пропоксур;
- Процимидон;
- Тау-флувалинат;
- Тебукаоназол;
- Тебутиурон;
- Тебутрин;
- Тетрадифон;
- Тетрахлорвинфос;
- Токлофос-метил;
- Триадимефон;
- Трибуфос;
- Трифлуралин;
- Фенвалерат;
- Фипронил;
- Флуметрин;
- Флуридон;
- Фосмет;
- Фосфамидон;
- Хлорбензилат;
- Хлордан;
- Хлордимеформ;
- Хлорпирифос;
- Хлорпирифос-метил;
- Хлорпрофам;
- Хлорфенвинфос;
- Циперметирн;
- Эндосульфат сульфат;
- Эндрин;
- Эсфенвалерат;
- Этион;

- Этопроп;
- Этридазол

Примечания:

1 Допускается использование других средств измерений утвержденных типов, обеспечивающих измерения с установленной точностью.

2 Допускается использование другого оборудования, материалов и реактивов с аналогичными или лучшими метрологическими и техническими характеристиками.

6 Требования безопасности и охраны окружающей среды

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

Используемые в работе реактивы относятся к веществам 1 и 2 класса опасности, при работе с ними необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007.

Помещения, в которых проводится подготовка проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией.

Операции по приготовлению и дозированию градуировочных растворов проводят под тягой в вытяжном шкафу.

При выполнении измерений с использованием хромато-масс-спектрометра следует соблюдать правила по электробезопасности по ГОСТ 12.1.019 и правила безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением в соответствии с [3].

Утилизацию растворов и проб после измерений, проводят в соответствии с нормативными документами по утилизации растворов и проб, разработанными в организации.

7 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих высшее или среднее специальное образование, прошедших соответствующий инструктаж, владеющих техникой хромато-масс-спектрометрии и изучивших инструкции по эксплуатации используемых приборов, освоивших методику измерений и получившие удовлетворительные результаты оперативного контроля процедуры измерений.

8 Условия выполнения измерений

При выполнении подготовки пробы соблюдают следующие условия:

Температура окружающего воздуха	от 15 °С до 30 °С;
Относительная влажность воздуха при 25°С	от 20 % до 80 %.

Хроматографические измерения проводят в условиях, приводимых в инструкции по эксплуатации прибора

9 Отбор и хранение проб

Отбор проб проводят, руководствуясь [2].

Отобранные образцы в лаборатории хранят в полиэтиленовой или стеклянной таре в холодильнике при температуре не выше минус 20 °С.

10 Подготовка к выполнению измерений

Подготовка к выполнению измерений включает в себя, приготовление растворов, подготовку прибора, установление градуировочной характеристики, контроль её стабильности и подготовку пробы

10.1 *Приготовление основного стандартного раствора пестицидов C_0 с массовой концентрацией 1 мг/см³.*

Для приготовления основных стандартных растворов пестицидов C_0 рассчитывают необходимую массу i -го вещества эквивалентную 10,0 мг с учетом содержания основного вещества для каждого определяемого аналита по формуле:

$$m_i = \frac{10}{P_i} \times 100\% \quad (1)$$

где m_i – масса i -го вещества необходимая для приготовления раствора, мг;

P_i – массовая доля вещества в i -ом стандартном образце, %.

В стеклянные емкости с завинчивающейся крышкой объемом не менее 10 см³ вносят рассчитанные массы стандартов пестицидов и с помощью соответствующего дозатора приливают по 10 см³ ацетонитрила и перемешивают до полного растворения вещества.

Раствор хранят при температуре не выше 10 °С не более 6 мес.

Перед применением растворы выдерживают при комнатной температуре не менее 10 мин.

10.2 *Приготовление рабочего стандартного раствора пестицидов C_1 с массовой концентрацией каждого пестицида 5 мкг/см³.*

Для приготовления рабочего стандартного раствора C_1 в виалу для хроматографа объемом 2 см³ при помощи соответствующего дозатора вносят 0,995 см³ ацетонитрила и 0,005 см³ раствора C_0 .

Раствор хранят в плотно закрывающейся стеклянной емкости при температуре не выше 10 °С не более 6 мес.

10.3 *Приготовление рабочего стандартного раствора пестицидов C_2 с массовой концентрацией каждого пестицида 1 мкг/см³.*

Для приготовления рабочего стандартного раствора C_2 в виалу для хроматографа объемом 2 см³ при помощи соответствующего дозатора вносят 0,8 см³ ацетонитрила и 0,2 см³ раствора C_1 .

Раствор хранят в плотно закрывающейся стеклянной емкости при температуре не выше 10 °С не более 6 мес.

10.4 *Приготовление матричных градуировочных растворов $G_1 - G_5$.*

Матричные градуировочные растворы готовят в пластиковых центрифужных пробирках вместимостью 15 см³ из «чистых» проб (бланк матрицы) массой 1,0 г, в которые вносят рабочий стандартный раствор C_1 и C_2 в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 – Приготовление матричных градуировочных растворов

Обозначение градуировочного раствора	Вносимый объем раствора C_1 , см ³	Вносимый объем раствора C_2 , см ³	Массовая доля каждого аналита в градуировочном растворе, мг/кг.
G_6	0,1	-	0,5
G_5	0,04	-	0,2
G_4	-	0,1	0,1
G_3	-	0,05	0,05

G ₂	-	0,02	0,02
G ₁	-	0,01	0,01

Пробирки выдерживают при комнатной температуре в течение 2-3 мин и проводят полный цикл подготовки пробы согласно разделу 11.

10.5 Подготовка прибора

Подготовку прибора к работе проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора. Проверку чистоты прибора проводят, хроматографируя холостую пробу. Прибор считается пригодным для выполнения анализа, если на хроматограмме холостой пробы отсутствуют посторонние пики в местах ожидаемого выхода определяемых компонентов.

Условия хроматографического разделения:

Режим инжектора:	без деления потока;
Температура инжектора:	270 °С;
Температурная программа:	начальная температура 80 °С – 2 мин, нагрев до 180 °С со скоростью 20 °С/мин, нагрев до 250 °С со скоростью 10 °С/мин, нагрев до 290 °С со скоростью 4 °С/мин, изотерма при 290 °С – 13 мин;
Газ носитель:	гелий;
Скорость потока газа носителя:	1,1 см ³ /мин;
Температура интерфейса:	280 °С;
Температура ионного источника:	200 °С;
Режим сканирования	MRM (массы ионов в таблице 3)

11 Подготовка проб

11.1 Экстракция пестицидов.

Навеску образца массой около 1 г помещают в пластиковую центрифужную пробирку объемом 50 см³ и приливают соответствующим дозатором 5 см³ ацетонитрила (к навескам образцов меда предварительно приливают 1 см³ деионизованной воды и перемешивают до растворения меда) и помещают в шейкер на 15 минут. В полученный экстракт вносят реактивы из набора для твердофазной экстракции, включающий в себя 3 г сульфата магния и 0,75 г ацетата натрия, помещают в шейкер на 15 минут, затем центрифугируют в течение 15 минут при 4000 об/мин. После центрифугирования отбирают 1,5 см³ надосадочной жидкости, переносят в пластиковую центрифужную пробирку объемом 15 см³ и приступают к очистке экстракта.

11.2 Очистка экстракта методом дисперсионной твердофазной экстракции.

В центрифужную пробирку объемом 15 см³, содержащую 1,5 см³ экстракта, вносят реактивы из набора для твердофазной экстракции включающего в себя 50 мг сорбента С-18, 150 мг сульфата магния, 50 мг сорбента PSA и помещают в шейкер на 15 минут, затем центрифугируют при 4000 об/мин в течение 15 минут. Полученную надосадочную жидкость переносят в виалу хроматографа с коническим дном объемом 1,5 см³, упаривают досуха в токе азота или воздуха и перерастворяют в 0,05 см³ ацетонитрила. Готовый образец используют для анализа.

Подготовленные для анализа образцы могут храниться до 30 суток при температуре не выше 10 °С.

Для исключения ложноположительных результатов, параллельно с исследуемыми образцами экстрагируют и очищают холостой образец где вместо навески образца используют 1 см³ ацетонитрила. Найденное значение содержания каждого пестицида в холостом образце вычитают из результата анализа пробы.

12 Выполнение измерений

Идентификацию и измерение проводят с использованием хромато-масс-спектрометра с ионизацией пробы электронным ударом.

12.1 Хромато-масс-спектрометрический анализ.

Хромато-масс-спектрометрическую систему готовят к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

Устанавливают программу анализа для хроматографического разделения анализируемых пестицидов с использованием неполярной колонки типа DB-5.

Примерный вид программы для колонки длиной 30 м, диаметром 0,25 мм и толщиной неподвижной фазы 0,25 мкм представлен ниже:

Режим инжектора:	без деления потока;
Температура инжектора:	270 °С;
Температурная программа:	начальная температура 80 °С – 2 мин, нагрев до 180 °С со скоростью 20 °С/мин, нагрев до 250 °С со скоростью 10 °С/мин, нагрев до 290 °С со скоростью 4 °С/мин, изотерма при 290 °С – 13 мин;
Газ носитель:	гелий;
Скорость потока газа носителя:	1,1 см ³ /мин;
Температура интерфейса:	280 °С;
Температура ионного источника:	200 °С;
Режим сканирования	MRM (массы ионов в таблице 3)

Таблица 3. Массы регистрируемых ионов пестицидов

Соединение	Родительский ион, m/z	Дочерний ион, m/z	Энергия соударения, эВ
2,4 – Динитротолуол	165	118,1	10
	165	119,1	5
2,6 – Динитротолуол	165	63,1	20
	165	148,1	10
2,6-ди-трет-бутил-п-крезол	205,2	177,2	10
	220,2	205,2	10
Ацетохлор	223,1	117,1	35
	223,1	132,1	20
Алахлор	161,07	146,06	12
	188,08	160,07	10
Альдрин	292,91	222,92	20
	292,91	257,91	20
Аметрин	227	185	10
	227	212	10
Амитраз	121	106,1	10
	131,9	117,7	16
Бифентрин	181,05	141,04	22
	181,05	153,05	6
Бромпропилат	340,96	184,98	15
	342,96	184,98	20
Карбарил	115	89	16

	144	115,1	22
Карбофуран	164,01	149	10
	221,01	164	5
Хлорбензилат	139	75	20
	139	111	15
Хлордан	372,81	265,87	15
	374,81	267,87	15
Хлордифеформ	181	140	15
	196	181	10
Хлорфенвинфос	266,98	158,99	15
	322,97	266,98	15
Хлорпрофам	213,06	127,03	15
	213,06	171,04	10
Хлорпирифос	313,93	257,95	15
	315,93	259,95	12
Хлорпирифос-метил	285,91	92,97	20
	285,91	270,91	25
Кумафос	226	163	18
	209,9	182	10
Бета-цифлутрин	206,03	151,02	20
	226,03	206,03	17
Лямбда-цигалотрин	181,04	152,03	23
	197,04	141,03	15
Циперметрин	163,03	127,02	12
	181,03	152,03	17
ДДД	234,97	164,98	20
	234,97	198,97	18
ДДЕ	245,95	175,97	25
	247,95	175,97	20
ДДТ	234,94	164,96	20
	234,94	198,95	15
Дельтаметрин	252,93	171,95	10
	252,93	173,95	10
Диазинон	199,06	93,03	15
	304,1	179,06	15
Дихлорфос	184,95	92,88	17
	219,95	184,95	10
Дильдрин	276,92	206,93	20
	276,92	240,92	10
Эндосульфат сульфат	272	237	15
	387	289	10
Эндрин	280,91	244,92	5
	344,88	280,9	8
Этион	230,99	129,01	20
	230,99	174,99	15
Этопроп	158	97	15
	158	114	5
Этридазол	210,93	139,95	15

	210,93	182,94	15
Фенвалерат / Эсфенвалерат	167,05	125,04	10
	419,13	225,07	10
Фипронил	366,9	212,9	28
	366,9	244,9	20
Флуметрин	239	168,2	15
	239	203,1	10
Флуридон	328,1	189,1	45
	329,1	328,2	15
Тау-флувалинат	250	55,1	16
	250	199,9	18
Гексахлорбензол	283,81	213,86	20
	283,81	248,84	20
Гексахлорциклогексан (альфа-, бета-, гамма-)	180,91	108,95	25
	218,89	182,91	15
Гептахлор	271,87	236,89	15
	273,87	238,88	15
Гептахлор эпоксид, изомер Б	134,93	98,95	15
	182,91	154,93	15
Гексахлорциклопентадие н	237	119	20
	237	142	20
Гексазинон	171,1	71,1	15
	171,1	85,1	15
Ипродион	314,03	245,03	15
	316,03	247,03	15
Малатион	173,02	99,01	10
	173,02	127,01	10
Метоксихлор	227,01	169,01	20
	227,01	212,01	15
Паратион-метил	262,99	109	15
	262,99	246	15
Мевинфос	127,04	109,02	10
	192,04	127,03	12
Диэтилтолуамид	190,2	91,1	35
	190,2	115,1	30
Нитрофен	201,99	138,99	21
	282,98	252,98	15
Норфлуразон	173,1	145,1	10
	303,1	145,1	20
Паратион	291,03	109,01	15
	291,03	137,02	10
Пендиметалин	252,13	162,08	12
	252,13	191,09	12
Перметрин	183,04	153,03	15
	183,04	165,03	15
Фосмет	160,01	77,01	20
	160,01	133,01	15
Фосфамидон	227,05	127,03	15

	264,06	127,03	15
Процимидон	283,02	255,02	10
	285,02	257,02	10
Прометрин	226,1	184,1	10
	241,1	184,1	10
Пронамид	172,9	145	15
	254,1	226,1	10
Пропетамфос	236,07	166,05	15
	236,07	194,06	5
Пропоксур	110	64	10
	152	110	10
Тебукаоназол	250,12	125,06	20
	252,12	127,06	20
Тебутиурон	156,1	74	15
	171,1	156,1	10
Тебутрин	241,1	170,1	15
	241,1	185,1	5
Тетрахлорвинфос	328,91	108,97	22
	330,91	108,97	22
Тетрадифон	226,93	198,94	18
	355,88	228,93	10
Токлофос-метил	264,96	219,97	20
	264,96	249,96	18
Триадимефон	208,07	111,04	25
	208,07	181,06	10
Трибуфос	202	146,9	5
	258	147	10
Трифлуралин	306,1	160,05	15
	306,1	264,09	15
Вернолат	128,1	86,1	5
	203,1	128,1	5
Винклозолин	284,97	212	15
	286,97	214	15

Для повышения чувствительности масс-спектрометра детектирование MRM переходов ионов разбивают на несколько временных сегментов, в течение которых масс-спектрометр регистрирует ионы пестицидов, входящих в данный промежуток времени.

12.2 Определение времен удерживания

Времена удерживания определяют при установлении градуировочной зависимости, Времена удерживания зависят от типа колонки и условий работы.

12.3 Получение градуировочной зависимости для определяемых компонентов

Построение и расчет градуировочной характеристики проводят в каждой серии анализов в автоматическом режиме при помощи программного обеспечения, Метод обработки данных – внешний стандарт, Проводят измерения не менее трех матричных градуировочных растворов, приготовленных по п. 10.4, обязательно включая раствор G1, При установлении градуировочной зависимости, используют линейную функцию вида $y = a + bx$, Градуировочная зависимость считается приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение квадрата коэффициента корреляции для калибровочной кривой каждого пестицида не менее 0,98.

12.4 Проведение измерения

Для проверки чистоты хромато-масс-спектрометрической системы в инжектор хроматографа вводят 1 мм³ ацетонитрила, Оценивают общий фон, наличие эффектов «памяти» и артефактов, В случае обнаружения артефактов проводят очистку хромато-масс-спектрометра, которая включает один или несколько следующих этапов: кондиционирование хроматографической колонки, замена лайнера и септы в инжекторе, очистка ионного источника,

Для оценки чувствительности системы вводят 1 мм³ матричного градуировочного раствора G1, Соотношение сигнал-шум для анализируемых соединений должно быть не менее 10.

В инжектор хроматографа вводят анализируемый экстракт в условиях указанных в п.12,1, Регистрируют масс-хроматограммы для MRM переходов указанных в таблице 3.

Идентификацию пестицидов проводят на основании времени удерживания и соотношения MRM переходов ион-предшественник – ион-продукт, Вычисляют отношение площадей пиков на масс-хроматограммах MRM переходов любого градуировочного раствора, используемого для построения градуировочной характеристики, и анализируемой пробы, Это соотношение должно иметь расхождение не более ± 30 %.

Пестицид в анализируемой пробе считается идентифицированным, если выполнены следующие условия:

- соотношения сигнал-шум идентифицированного пика больше или равно десяти;
- время удерживания идентифицированного пика совпадает с временем его удерживания, полученным при установлении градуировочной зависимости или отличается от него не более чем на 0,02 мин.
- соотношение площадей пиков идентифицированного пестицида на масс-хроматограммах MRM переходов любого градуировочного раствора, используемого для построения градуировочной характеристики, и анализируемой пробы имеет расхождение не более ± 15 % .

12.5 Обработка результатов измерений.

Расчеты площади пика и массовой доли идентифицированных пестицидов выполняют при помощи программы обработки данных в автоматическом режиме, Определение площадей проводят по MRM переходу, имеющему наибольшую интенсивность.

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

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

где X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли пестицидов;

r – значение предела повторяемости, указанное в таблице 1.

Результаты измерений содержания пестицидов округляют до третьего десятичного знака и выражают в мг/кг.

12.6 Оформление результатов измерений

Массовую долю i -го пестицида, мг/кг, представляют в виде

$$X_i \pm \Delta_i, \quad (3)$$

где X_i – среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, мг/кг;

Δ_i – значение погрешности определения содержания i -го пестицида, рассчитанное по формуле

$$\Delta_i = X_i \cdot U_i \cdot 0,01, \quad (4)$$

где U_i – значение относительной расширенной неопределенности содержания i -го пестицида для соответствующего диапазона измерений, %, в соответствии с

12 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Оценку прецизионности результатов испытаний в условиях повторяемости и воспроизводимости проводят в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-1, ГОСТ ИСО 5725-2

12.1 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух отдельных независимых испытаний, полученными одним и тем же методом на одной лабораторной пробе, в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором на одном и том же экземпляре оборудования в течение короткого промежутка времени, не должно превышать предел повторяемости r , указанный в таблице 1, более чем в 5% случаев.

12.2 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух отдельных испытаний, полученными одним и тем же методом на одной лабораторной пробе, в разных лабораториях разными операторами на различных экземплярах оборудования, не должно превышать показатель воспроизводимости σ_R , указанный в таблице 1, более чем в 5% случаев.

Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в документах системы менеджмента качества.

Библиография

- [1] ТУ 0271-001-45905715-02 Гелий газообразный высокой чистоты (сжатый)
- [2] «Письмо Россельхознадзора от 08,08,2012 N ФС-ЕН-2/10267 Об отборе проб (образцов) от подконтрольных товаров для проведения лабораторных исследований в испытательных центрах (лабораториях) (вместе с "Рекомендациями по отбору проб (образцов) от различной продукции")
- [3] Приказ Федеральной службы по экологическому, технологическому и атомному надзору от 15 декабря 2020 года N 536 Федеральные нормы и правила в области промышленной безопасности "Правила промышленной безопасности при использовании оборудования, работающего под избыточным давлением"