

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



Методические указания

МУ А-1/131

УТВЕРЖДЕНО
Заместитель директора
ФГБУ «ВГНКИ»

А.В. Третьяков



«август» 20 24 г.
на основании доверенности
от 24.06.2024 № 23)

Методика (метод) измерений

**Методические указания по определению инсектоакарицидов в
продукции животного происхождения**

Аттестована:

ФГБУ «ВГНКИ»

(наименование организации,
осуществлявшей аттестацию методики)

Регистрационный номер
в Информационном фонде по
обеспечению единства измерений

ФР. 1.31. 2024. 49205

г. Москва

2024

СВЕДЕНИЯ О РАЗРАБОТКЕ

РАЗРАБОТАНО: А. Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»,
Б. Институтом молекулярной тераностики Научно-технологического парка биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

(наименование инициатора разработки)

ИСПОЛНИТЕЛЬ: А. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»,
Б. Институт молекулярной тераностики Научно-технологического парка биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

(полное наименование организации-разработчика)

А. 123022, г. Москва, Звенигородское ш., 5;
Б. 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

(почтовый адрес организации-разработчика)

А. тел.: +7 (495) 982-50-84, +7 (499) 253-14-91;

E-mail: vgnki@fsvps.gov.ru

Б. Тел: +7 (495) 609-14-00;

E-mail: nosyrev_a_e@staff.sechenov.ru

Руководитель организации-разработчика:

А. Киш Леонид Карольевич
(фамилия, имя, отчество)

Б. Носырев Александр Евгеньевич
(фамилия, имя, отчество)

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

АТТЕСТОВАНА: федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»
(полное наименование юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений)

Уникальный номер записи об аккредитации в реестре аккредитованных лиц юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений: РОСС RU.0001.310354

Свидетельство об аттестации методики измерений: РОСС. RU. 0001. 310354 - 01/18/2024
(номер свидетельства и дата его оформления)

Руководитель юридического лица, аттестовавшего методику (метод) измерений:

Киш Леонид Карольевич
(фамилия, имя, отчество)

СВЕДЕНИЯ ОБ АТТЕСТАЦИИ

Регистрационный код методики измерений по Федеральному реестру

99.1.31.2024.49205

СВЕДЕНИЯ О ТОМ, ЧТО МЕТОДИКА (МЕТОД) ИЗМЕРЕНИЙ ВВОДИТСЯ ВПЕРВЫЕ:

ВВЕДЕН (А) ВПЕРВЫЕ

Содержание

1 Область применения	1
2 Сущность метода	1
3 Нормативные ссылки	2
4 Метрологические характеристики	5
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы	7
6 Требования безопасности и охраны окружающей среды	12
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	20
12 Выполнение измерений	24
13 Обработка результатов измерений	32
14 Оформление результатов измерений	36
Приложение А	41
Приложение Б	43
Приложение С	45

1 Область применения

Настоящие методические указания предназначены для организаций и учреждений, осуществляющих контроль безопасности и мониторинг пищевой продукции по остаточному содержанию пестицидов.

Настоящая методика распространяется на не переработанную и переработанную пищевую продукцию животного происхождения: продукты убоя и мясную продукцию, продукты убоя сельскохозяйственной птицы и продукцию их переработки, молоко и молочную продукцию, мед, продукты на его основе, и устанавливает метод определения остаточного содержания инсектоакарицидов методами высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографий с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС).

Диапазон измерений массовой доли фентиона, темефоса, ацетамиприда, фипронила, бета-цифлутрина, пропоксура, эсфенвалерата, малатиона, хлорпирифос-метила от 0,005 до 0,1 млн⁻¹ (мг/кг), диазинона, имидаклоприда от 0,01 до 0,2 млн⁻¹ (мг/кг), индоксакарба от 0,025 до 0,5 млн⁻¹ (мг/кг), циромазина, тетраметрина, хлорпирифоса от 0,05 до 1,0 млн⁻¹ (мг/кг), фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина от 0,005 до 1,0 млн⁻¹ (мг/кг), циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила, перметрина от 0,01 до 5,0 млн⁻¹ (мг/кг).

2 Сущность метода

Измерение массовой доли фентиона, темефоса, ацетамиприда, диазинона, имидаклоприда, индоксакарба, циромазина, тетраметрина и хлорпирифоса выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Детектирование веществ проводят в режиме мониторинга множественных реакций (MRM).

Измерение массовой доли фипронила, бета-цифлутрина, пропоксура, эсфенвалерата, малатиона, хлорпирифос-метила, фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина, циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила и перметрина выполняют методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим

детектированием. Детектирование веществ проводят в режиме регистрации выделенного иона (SIR).

Идентификацию определяемых соединений осуществляют по абсолютным временам удерживания.

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки по площади пика идентифицированных соединений относительно установленных значений определяемых соединений в градуировочных растворах.

3 Нормативные ссылки

В настоящей методике измерений использованы ссылки на следующие документы в области стандартизации:

ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике.

OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

ГОСТ Р 12.1.019–2017 ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ Р 53228-2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

ГОСТ 12.0.004-2015 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения.

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.

ГОСТ 12.1.005-88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны.

ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

ГОСТ 12.2.007.0-75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности.

ГОСТ 12.4.021-75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования.

ГОСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4788-80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26678-85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия.

ГОСТ 4233-77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия.

ГОСТ 4523-77 Магний серно-кислый 7-водный. Технические условия.

ГОСТ 9097-82 Сульфат аммония. Технические условия.

ГОСТ 20235.0-74 Мясо кроликов. Методы отбора образцов. Органолептические методы определения свежести.

ГОСТ 4288–76 Изделия кулинарные и полуфабрикаты из рубленого мяса.

ГОСТ 4814-57 Блоки мясные замороженные. Технические условия.

ГОСТ 7269-2015 Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести.

ГОСТ 8756.0-70 Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию.

ГОСТ 9792-73 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб.

ГОСТ 19792–2017 Мед натуральный. Технические условия.

ГОСТ 26809.1–2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты.

ГОСТ 26809.2–2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты.

ГОСТ 29245–91 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей.

ГОСТ 31467–2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям.

ГОСТ 32951-2014 Полуфабрикаты мясные и мясосодержащие. Общие технические условия.

ГОСТ 33790–2016 Кишки и мочевые пузыри говяжьи. Технические условия.

ГОСТ 33791–2016 Кишки и мочевые пузыри свиные. Технические условия.

ГОСТ Р 51447-99 Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб.

ГОСТ Р 54704-2011 Блоки из жилованного мяса замороженные. Общие 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 инсектоакарицидов в образцах мяса, субпродуктов, иных продуктов убоя и мясной продукции от всех видов животных и птиц, молока и молочной продукции, мёда и продуктов на его основе с характеристиками погрешности приведенными в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики погрешности методики измерений

Наименование соединения	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности $P=0,95$), $\pm \delta_{\text{л}}^*$, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости), σ , %	Предел повторяемости, г, % (при $P=0,95, n=2$)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %
Ацетамиприд	от 0,005 до 0,05 включ.	25	10	28	15
	св. 0,05 до 0,1 включ.	20	8	22	11
бета-Цифлутрин	от 0,005 до 0,05 включ.	25	12	33	15
	св. 0,05 до 0,1 включ.	20	8	22	11
Бифентрин	от 0,005 до 0,2 включ.	25	12	33	15
	св. 0,2 до 1,0 включ.	20	8	22	11
Дельтаметрин	от 0,005 до 0,2 включ.	28	13	36	15
	св. 0,2 до 1,0 включ.	13	5	14	8
Диазинон	от 0,01 до 0,2 включ.	25	10	28	15
Имidakлоприд	от 0,01 до 0,05 включ.	25	12	33	15
	св. 0,05 до 0,2 включ.	18	7	19	10

Наименование соединения	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг ¹ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности P=0,95), $\pm \delta_{\text{л}}^*$, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости), σ , %	Предел повторяемости, г, % (при P = 0,95, n = 2)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %
Индоксакарб	от 0,025 до 0,5 включ.	25	10	28	15
Карбарил	от 0,01 до 0,2 включ.	30	12	33	18
	св. 0,2 до 5,0 включ.	13	5	14	8
лямбда-Цигалотрин	от 0,01 до 0,2 включ.	30	12	33	18
	св. 0,2 до 5,0 включ.	13	5	14	8
Малатион	от 0,005 до 0,02 включ.	23	9	25	12
	св. 0,02 до 0,1 включ.	16	7	19	9
Перметрин	от 0,01 до 0,1 включ.	30	12	33	18
	св. 0,1 до 5,0 включ.	15	6	17	8
Пропоксур	от 0,005 до 0,1 включ.	25	11	30	14
Темефос	от 0,005 до 0,1 включ.	25	10	28	14
Тетраметрин	от 0,05 до 1,0 включ.	25	12	33	14
Фенвалерат	от 0,005 до 0,02 включ.	30	14	39	18
	св. 0,02 до 1,0 включ.	13	5	14	7
Фентион	от 0,005 до 0,1 включ.	20	9	25	12
Фипронил	от 0,005 до 0,02 включ.	33	12	33	18
	св. 0,02 до 0,1 включ.	20	9	25	12
Хлорпирифос	от 0,05 до 0,2 включ.	27	12	33	15
	св. 0,2 до 1,0 включ.	20	9	25	12
Хлорпирифос-метил	от 0,005 до 0,02 включ.	30	12	33	16
	св. 0,02 до 0,1 включ.	18	8	22	10

Наименование соединения	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг ¹ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности P=0,95), $\pm \delta L^*$, %	Показатель повторяемости (относительное стандартное отклонение повторяемости), σ , %	Предел повторяемости, г, % (при P=0,95, n=2)	Показатель воспроизводимости (относительное стандартное отклонение воспроизводимости) σ_R , %
Циперметрин	от 0,01 до 0,2 включ.	28	12	33	15
	св. 0,2 до 5,0 включ.	12	5	14	7
Циромазин	от 0,05 до 1,0 включ.	25	10	28	15
Эсфенвалерат	от 0,005 до 0,1 включ.	25	12	33	14
* Соответствует относительному значению расширенной неопределенности с коэффициентом охвата k=2					

Значения показателя точности методики используют при:

- оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;
- оценке деятельности лабораторий на качество проведения измерений;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации

методики измерений в лаборатории.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы и реактивы.

5.1 Средства измерений и вспомогательное оборудование

5.1.1 Хроматограф сверхэффективной жидкостной типа Waters ACQUITY UPLC, (США) с квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения с источником ионизации типа электроспрей MaXis, (Германия) и программным обеспечением «MicroTOF, Data Analysis, Target Analysis, Quantitum Analysis, HyStar» («Bruker», Германия). Диапазон измерений значений, а.е.м. от 50 до 3000 в режиме получения ионов фрагментов.

5.1.2 Хроматограф высокоэффективной жидкостной типа Agilent 1290 Infinity II с tandemным трехквадрупольным масс-спектрометрическим детектором с ионизацией электроспреем типа Agilent 6470 LC/TQ со встроенным микропрограммным обеспечением (Firmware) и внешнем ПО MassHunter, устанавливаемое на ПК.

5.1.3 Колонка хроматографическая для обращенно-фазовой хроматографии с гибридным сорбентом C18 с этиленовыми мостиками (ВЕН) и размером частиц 1,7 мкм, длиной 100 мм и внутренним диаметром 1,0 мм

5.1.4 Газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором с ионизацией типа «электронный удар» (например, газовый хроматограф Хроматограф газовый Trace 1310 с масс-спектрометрическим детектором TSQ 8000, номер в Госреестре № 64322-16 и газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором GCMS-QP2020 Shimadzu, номер в Госреестре 66402-17).

5.1.5 Колонка хроматографическая массспектрометрическая слабополярная типа VF-5ms длиной 50 м, диаметром 0,25 мм и толщиной фазы 0,25 мкм.

5.1.6 Весы специального (I) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с поверочным интервалом (e) не более 1 мг и действительной ценой деления (d) не более 0,1 мг. (например: Весы аналитические Discovery DV214C (Ohaus, Швейцария), номер в госреестре 33646-06).

5.1.7 Весы высокого (II) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с поверочным интервалом (e) не более 0,1 г и действительной ценой деления (d) не более 0,01 г (например: ЕК-300i (A&D Company, Япония), номер в госреестре 25313-06).

5.1.8 Одноканальные пипетки переменного объема (0,02 – 0,1) см³, (0,2 – 1,0) см³, (0,5 – 5,0) см³ с допускаемой относительной погрешностью дозирования по метанолу и ацетонитрилу не более (± 5) %.

5.1.9 Колбы круглодонные К-1-100-14/23 ТС, ГОСТ 25336.

5.1.10 Цилиндры мерные 1-500-1, 1-1000-1, 1-250-1 по ГОСТ 1770.

5.1.11 Колбы мерные 2-10-2, 2-50-2, 2-100-2 по ГОСТ 1770.

5.1.12 Гомогенизатор ножевой, модель GM200 фирмы «Retsch».

5.1.13 Вертикальный перемешиватель, модель Reax 2 фирмы «Heidolph».

5.1.14 Центрифуга лабораторная рефрижераторная с ротором и адаптерами для пробирок вместимостью 2 см³, обеспечивающая скорость вращения 15000 об/мин с контроллером температуры в диапазоне от 4 °С до 25 °С, типа Eppendorf 5428 фирмы «Eppendorf AG».

5.1.15 Центрифуга лабораторная рефрижераторная с ротором и адаптерами для пробирок вместимостью 15 см³, обеспечивающая скорость вращения 4750 об/мин с контроллером температуры в диапазоне от 4 °С до 25 °С, типа Allegra x-15R фирмы «Beckman».

5.1.16 Встряхиватель вортексного типа, с вставкой для одной пробирки и с диапазоном измерений скорости вращения от 150 до 2500 об/мин, типа Reax control фирмы «Heidolph».

5.1.17 Система упаривания растворителей типа Reacti Therm 3, обеспечивающая поддержание температуры на уровне 50 °С.

5.1.18 Вакуумное устройство для твердофазной экстракции типа Vac Elut фирмы «Varian», США.

5.1.19 Система получения деионизированной воды не более 18,18 МОм×см типа АКВАЛАБ AL PLUS.

5.1.20 Генератор азота, объемная доля азота не менее 95 %, производительность 200 дм³/мин, типа Nitrovar-1LV фирмы «Parker Balston».

5.1.21 Лабораторная морозильная камера с рабочим диапазоном температур от минус 20 °С до минус 40 °С.

5.1.22 Холодильник бытовой с рабочим диапазоном температур от 0 °С до 8 °С по ГОСТ 26678.

5.1.23 Ультразвуковая баня с нагревом до 30 °С.

5.1.24 Бутыль стеклянная БВ-1000 по ГОСТ Р 51477.

5.1.25 Ротационный испаритель типа R-124 с вакуумным насосом (Büchi, Швейцария).

5.1.26 Пробирки пластиковые центрифужные объемом 15 см³.

5.1.27 Пробирки пластиковые центрифужные объемом 2 см³ типа эппендорф.

5.1.28 Фильтры нейлоновые мембранные с размером диаметра пор не более 0,45 мкм.

5.1.29 Шприцы двухкомпонентные, 2 см³, медицинские.

5.1.30 Вials (флаконы) хроматографические.

5.1.31 Вставки для вials объемом 0,2 см³.

5.1.32 Картридж для твердофазной экстракции пустой объемом не менее 12 мл.

5.2 Реактивы, материалы

5.2.1 Фентион с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 55-38-9.

5.2.2 Темефос с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 3383-96-8.

5.2.3 Ацетамиприд с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 135410-20-7.

5.2.4 Диазинон с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 333-41-5.

5.2.5 Имидаклоприд с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 138261-41-3.

5.2.6 Индоксакарб с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 144171-61-9.

5.2.7 Циромазин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 66215-27-8.

5.2.8 Тетраметрин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 7696-12-0.

5.2.9 Хлорпирифос с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 2921-88-2.

5.2.10 Фипронил с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 120068-37-3.

5.2.11 Бета-цифлутрин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 68359-37-5.

5.2.12 Пропоксур с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 114-26-1.

5.2.13 Эсфенвалерат с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 66230-04-4.

5.2.14 Малатион с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 121-75-5.

5.2.15 Хлорпирифос-метил с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 5598-13-0.

5.2.16 Фенвалерат с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 51630-58-1.

5.2.17 Бифентрин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 82657-04-3.

5.2.18 Дельтаметрин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 52918-63-5.

5.2.19 Циперметрин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 52315-07-8.

5.2.20 Лямбда-цигалотрин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 91465-08-6.

5.2.21 Карбарил с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 63-25-2.

5.2.22 Перметрин с массовой долей основного вещества не менее 80,0%, CAS № 52645-53-1.

5.2.23 Ацетонитрил для ВЭЖХ-МС с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %, CAS № 75-05-8.

5.2.24 Вода деионизированная для ВЭЖХ-МС, CAS № 7732-18-5.

5.2.25 н-Гексан, квалификации «х.ч.», ТУ 2631-324-44493179-98.

5.2.26 Толуол, ОСЧ, ТУ 2631-065-44493179-01.

5.2.27 Метанол, ХЧ ТУ 6-09-1709-77.

5.2.28 Муравьиная кислота для ВЭЖХ-МС с массовой долей основного вещества не менее 99 %, CAS № 64-18-6.

5.2.29 Формиат аммония с массовой долей основного вещества не менее 99 %, CAS № 540-69-2.

5.2.30 Сульфат аммония х.ч., ГОСТ 9097.

5.2.31 Флорисил (0,150-0,250) мм (Merck, 1.12994, Германия).

5.2.32 Силикагель «60» (0,063-0,100) мм (Merck, 1.15101, Германия).

5.2.33 Сорбент С18 (Merck, Германия).

5.2.34 Стекловата силанизированная (Supelco, 20411, Германия).

5.2.35 Сульфат магния безводный по ГОСТ 4523 х.ч.

5.2.36 Хлорид натрия по ГОСТ 4233, х.ч.

Примечание - Допускается применение других средств измерений, вспомогательного 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 дозированию градуировочных растворов проводят под тягой в вытяжном шкафу.

При выполнении измерений с использованием жидкостного и газового хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами следует соблюдать правила по электробезопасности по ГОСТ 12.1.019 и правила безопасной эксплуатации сосудов, работающих под давлением.

Утилизацию растворов и проб после измерений проводят в соответствии с действующим законодательством и утвержденным порядком обращения с отходами.

7 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускаются специалисты, имеющие высшее или среднее специальное образование по профилю работ, освоившие методику измерений, владеющие техникой высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографий с масс-спектрометрическим детектированием и изучившие инструкции по эксплуатации используемых приборов.

8 Условия выполнения измерений

При выполнении подготовки пробы соблюдают следующие условия:

температура воздуха	(22±10) °C
атмосферное давление	от 630 до 800 мм.рт.ст.
относительная влажность воздуха	от 30% до 80%

Хроматографические измерения проводят в условиях, описанных в инструкции по эксплуатации приборов.

9 Отбор и хранение проб

Отбор проб мяса, мясных продуктов, субпродуктов проводят по ГОСТ 7269, ГОСТ 32951, ГОСТ Р 51447, ГОСТ 20235.0, ГОСТ 4814, ГОСТ Р 54704, мясных полуфабрикатов – по ГОСТ 32951, кулинарных изделий и полуфабрикатов из рубленого мяса – по ГОСТ 4288.

Отбор проб мяса птицы, пищевых субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы по ГОСТ 31467.

Отбор проб колбасных изделий и продуктов из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц по ГОСТ 9792, консервов – по ГОСТ 8756.0.

Отбор проб молока и молочной продукции по ГОСТ 26809.1 и ГОСТ 26809.2, консервов молочных – по ГОСТ 29245.

Отбор проб мёда по ГОСТ 19792.

Отбор проб кишечного сырья по ГОСТ 33790 и ГОСТ 33791

Допустимо использовать иные нормативные документы на продукцию, регламентирующие порядок проведения (технология) отбора проб указанных объектов исследований (испытаний).

Отобранные образцы хранятся при условиях, предписанных производителем, либо, при их отсутствии, в замороженном виде до момента проведения анализа.

10 Подготовка к выполнению измерений

Подготовка к выполнению измерений включает в себя подготовку лабораторной посуды, приготовление растворов, подготовку прибора, установление градуировочной характеристики и подготовку пробы.

10.1 Приготовление рабочих растворов стандартов пестицидов

При приготовлении рабочих растворов стандартных образцов рассчитывают навеску для каждого определяемого вещества исходя из массовой доли основного вещества в стандартном образце по формуле (1).

$$m = \frac{m(0)}{Pr} * 100, (1)$$

где m – масса навески стандартного образца, скорректированная в соответствии с содержанием основного вещества, г;

$m(0)$ - масса навески чистого стандартного образца, необходимая для приготовления раствора заданной концентрации, г;

Pr - массовая доля основного вещества в стандартном образце, %.

10.1.1 Приготовление исходных растворов стандартов инсектоакарицидов с массовой долей 100 мкг/см³ (C₁)

Взвешивают навески, рассчитанные по формуле 1, соответствующие $0,0100 \pm 0,0010$ г чистых инсектоакарицидов, каждый из которых переносят в отдельную мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в небольшом количестве ацетонитрила. Получившийся раствор доводят до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленные растворы хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 1 года.

10.1.2 Приготовление раствора инсектоакарицидов C₂ с массовой долей фентиона, темефоса, ацетамиприда 1 мкг/см³, диазинона, имидаклоприда 2 мкг/см³, индоксакарба 5 мкг/см³, циромазина, тетраметрина, хлорпирифоса 10 мкг/см³

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³ по 1 см³ растворов C₁ циромазина, тетраметрина, хлорпирифоса, 0,5 см³ раствора C₁ индоксакарба, по 0,2 см³ раствора C₁ диазинона, имидаклоприда по 0,1 см³ раствора C₁ фентиона, темефоса, ацетамиприда. Доводят оставшийся объем мерной колбы до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.3 Приготовление раствора инсектоакарицидов C₃ с массовой долей фентиона, темефоса, ацетамиприда 0,1 мкг/см³, диазинона, имидаклоприда 0,2 мкг/см³, индоксакарба 0,5 мкг/см³, циромазина, тетраметрина, хлорпирифоса 1 мкг/см³

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают 1 см³ раствора C₂ и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³. Доводят объем раствора до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.4 Приготовление растворов фипронила, бета-цифлутрина, пропоксура, эсфенвалерата, малатиона, хлорпирифос-метила, фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина, циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила, перметрина с массовой долей 10 мкг/см³ (С₄)

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают по 1 см³ растворов С₁ фипронила, бета-цифлутрина, пропоксура, эсфенвалерата, малатиона, хлорпирифос-метила, фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина, циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила, перметрина и переносят в мерные колбы вместимостью 10 см³. Доводят объем каждого раствора до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленные растворы хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.5 Приготовление раствора инсектоакарицидов С₅ с массовой долей фипронила, бета-цифлутрина, пропоксура, эсфенвалерата, малатиона, хлорпирифос-метила 0,2 мкг/см³

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³ по 0,2 см³ растворов С₄ фипронила, бета-цифлутрина, пропоксура, эсфенвалерата, малатиона и хлорпирифос-метила. Доводят оставшийся объем мерной колбы до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.6 Приготовление раствора инсектоакарицидов С₆ с массовой долей фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина 0,2 мкг/см³

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³ по 0,2 см³ растворов С₄

фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина. Доводят оставшийся объем мерной колбы до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.7 Приготовление раствора инсектоакарицидов С₇ с массовой долей фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина 2 мкг/см³

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³ по 2 см³ растворов С₄ фенвалерата, бифентрина, дельтаметрина. Доводят оставшийся объем мерной колбы до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.8 Приготовление раствора инсектоакарицидов С₈ с массовой долей циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила, перметрина 0,2 мкг/см³

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³ по 0,2 см³ растворов С₄ циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила, перметрина. Доводят оставшийся объем мерной колбы до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.1.9 Приготовление раствора инсектоакарицидов С₉ с массовой долей циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила, перметрина 10,0 мкг/см³

С помощью одноканальной пипетки переменного объема отбирают и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³ по 1 см³ растворов С₁ циперметрина, лямбда-цигалотрина, карбарила, перметрина. Доводят оставшийся объем мерной колбы до метки ацетонитрилом и перемешивают.

Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус 20 °С в течение 6 месяцев.

10.2 Приготовление матричных градуировочных растворов G₁ – G₅

Для приготовления матричных градуировочных растворов в пластиковые центрифужные пробирки объемом 15 см³, содержащие освобожденную от несъедобных частей гомогенизированную матрицу по п 11.1, вносят рабочие растворы инсектоакарицидов в соответствии с таблицей 2. В качестве матрицы допустимо использовать исследованные ранее пробы, не содержащие сигналов анализируемых пестицидов. Концентрация получаемых градуировочных растворов приведена в таблице 3.

Таблица 2 – Приготовление матричных градуировочных растворов

Номер градуировочного раствора	Объем вносимой добавки раствора из расчета на 1 г матрицы, см ³						
	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	C ₉
G1	-	0,05	0,025	0,025	-	0,05	-
G2	-	0,1	0,05	0,05	-	0,25	-
G3	0,02	-	0,1	0,25	-	-	0,02
G4	0,05	-	0,25	-	0,1	-	0,1
G5	0,1	-	0,5	-	0,5	-	0,5

Далее с пробами проводят полный цикл подготовки пробы по пунктам 11.2 – 11.3.

Таблица 3 – Концентрация градуировочных растворов

Наименование аналита	Массовая доля инсектоакарицидов в градуировочном растворе, мг/кг				
	G1	G2	G3	G4	G5
Тетраметрин	0,05	0,1	0,2	0,5	1
Циромазин	0,05	0,1	0,2	0,5	1
Хлорпирифос	0,05	0,1	0,2	0,5	1
Индоксакарб	0,025	0,05	0,1	0,25	0,5
Имидаклоприд	0,01	0,02	0,04	0,1	0,2
Диазинон	0,01	0,02	0,04	0,1	0,2
Фентион	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Темефос	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1

Наименование аналита	Массовая доля инсектоакарицидов в градуировочном растворе, мг/кг				
	G1	G2	G3	G4	G5
Ацетамиприд	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Фипронил	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Бета- цифлутрин	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Пропоксур	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Эсфенвалерат	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Малатион	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Хлорпирифос- метил	0,005	0,01	0,02	0,05	0,1
Фенвалерат	0,005	0,01	0,05	0,2	1
Бифентрин	0,005	0,01	0,05	0,2	1
Дельтаметрин	0,005	0,01	0,05	0,2	1
Циперметрин	0,01	0,05	0,2	1	5
Лямбда- цигалотрин	0,01	0,05	0,2	1	5
Карбарил	0,01	0,05	0,2	1	5
Перметрин	0,01	0,05	0,2	1	5

10.3 Приготовление подвижных фаз

10.3.1 Приготовление подвижной фазы А

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ переносят 0,315 г формиата аммония, с помощью мерного цилиндра наливают 1000 см³ деионизованной воды и добавляют с помощью пипетки переменного объема 0,1 см³ муравьиной кислоты.

10.3.2 Приготовление подвижной фазы В

В стеклянную бутылку вместимостью 1000 см³ с помощью мерного цилиндра наливают 1000 см³ ацетонитрила.

10.4 Приготовление раствора ацетонитрил/толуол 3:1

В мерный цилиндр объемом 250 см³ наливают 150 см³ ацетонитрила и 50 см³ толуола, затем перемешивают.

10.5 Приготовление 10%-го раствора ацетонитрила в деионизированной воде

В мерный цилиндр объемом 250 см³ наливают 180 см³ деионизированной воды, затем с помощью одноканальной пипетки переменного объема приливают 20 см³ ацетонитрила.

10.6 Приготовление холостой пробы

Для контроля уровня контаминации проб пестицидами в процессе пробоподготовки в каждой серии измерений готовят холостую пробу. Для этого, в пластиковую центрифужную пробирку объемом 15 см³ взвешивают освобожденную от несъедобных частей гомогенизированную матрицу, использованную для построения градуировочных растворов, и проводят полный цикл подготовки пробы по п. 11.2 – 11.3. Количество используемой матрицы, а также ее предварительную подготовку проводят согласно п. 11.1 исходя из материала исследуемых проб.

10.7 Подготовка прибора

Подготовку прибора к работе проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

Для проверки чистоты хромато-масс-спектрометрической системы перед проведением серии измерений проводят холостой анализ без введения пробы. Оценивают общий фон, наличие эффектов «памяти» и артефактов. В случае обнаружения артефактов проводят очистку хромато-масс-спектрометра согласно инструкциям к приборам и хроматографическим колонкам.

11 Подготовка проб

11.1 Гомогенизация и взвешивание

Пробы от продуктов убоя и мясной продукции предварительно освобождают от костей, хрящей, грубой соединительной ткани, снимают оболочку с изделий и по возможности освобождают от обсыпки, начинки и других ингредиентов, в том числе не мясных компонентов, после чего тщательно измельчают на мясорубке дважды и/или гомогенизируют.

Подготовку мяса птицы, пищевых субпродуктов и полуфабрикатов из мяса птицы проводят по ГОСТ 31467 (раздел 6).

Подготовку проб кулинарных изделий и полуфабрикатов из рубленого мяса проводят по ГОСТ 4288 (пункт 2.4.2).

Подготовку проб молока и молочных продуктов проводят по ГОСТ 26809.1 (раздел 6). Сухие молочные продукты восстанавливают по ГОСТ 29245 (пункт 3.4). Концентрированное молоко разводят деионизированной водой по ГОСТ 29245 (пункт 3.3).

Подготовку проб молочной продукции проводят по ГОСТ 26809.2 (пункт 5.3.25).

Подготовка проб меда и продуктов на его основе проводят по ГОСТ 19792 (подраздел 7.2).

Гомогенизированные пробы мяса, субпродуктов, иных продуктов убоя, мясной продукции, молока и молочной продукции взвешивают в фарфоровой ступке в количестве $2,00 \pm 0,01$ г, добавляют 2 г сульфата аммония, растирают до однородного состояния, переносят в пластиковые центрифужные пробирки объемом 15 см^3 и направляют на стадию экстракции по п. 11.2.1.

Пробы меда взвешивают в пластиковых центрифужных пробирках объемом 15 см^3 в количестве $2,00 \pm 0,01$ г и направляют на стадию экстракции по п. 11.2.2.

Пробы высокожирных продуктов (например, жир, шпик или сливочное масло) для целей ВЭЖХ-МС/МС анализа взвешивают в пластиковых центрифужных пробирках объемом 15 см^3 в количестве $0,50 \pm 0,05$ г и направляют на стадию экстракции по п. 11.2.3.

11.2 Экстракция

11.2.1 Экстракция проб мяса, субпродуктов, иных продуктов убоя, мясной продукции, молока и молочной продукции

В пластиковую центрифужную пробирку с пробой приливают 10 см^3 ацетонитрила (добавление ацетонитрила в пробу молока осуществляется на встряхивателе, по каплям).

Пробирки помещают на вертикальный перемешиватель на 15 минут, затем центрифугируют 15 минут со скоростью 4000 об/мин при температуре 4 °С.

Полученный ацетонитрильный экстракт отбирают в пустую пластиковую центрифужную пробирку объемом на 15 см³, а к осадку приливают 5 см³ гексана и повторно помещают на вертикальный перемешиватель на 15 минут, затем центрифугируют 15 минут со скоростью 4000 об/мин при температуре 4 °С.

Полученный гексановый экстракт отбирают и объединяют с ацетонитрильным экстрактом.

Объединенные экстракты упаривают в токе воздуха или азота при температуре 45 °С до 5 см³, затем центрифугируют в течение 20 минут со скоростью 4000 об/мин при температуре 4 °С. Полученный экстракт используют для твердофазной очистки.

11.2.2 Экстракция проб меда и продуктов на его основе

Навеску меда растворяют в 20 см³ деионизованной воды и используют для твердофазной очистки.

11.2.3 Экстракция проб высокожирных продуктов для ВЭЖХ-МС/МС анализа

В пластиковую центрифужную пробирку с пробой добавляют 0,5 см³ воды и 2 см³ ацетонитрила, перемешивают на вортексе 1 мин. Далее добавляют 350 мг MgSO₄ и 100 мг NaCl, встряхивают и помещают в ультразвуковую баню на 30 мин при 30 °С. Содержимое пробирки центрифугируют в течении 20 минут со скоростью 4000 об/мин. Полученный экстракт используют для твердофазной очистки.

11.3 Твердофазная очистка

11.3.1 Твердофазная очистка экстракта проб мяса, субпродуктов, иных продуктов убоя, мясной продукции, молока и молочной продукции

В стеклянную колонку помещают тампон из стекловаты, затем насыпают 1 г флорисила, 0,15 г силикагеля и уплотняют тампоном из стекловаты.

Колонку кондиционируют 5 см³ смеси ацетонитрил/толуол (3:1). Промывную фракцию отбрасывают и подставляют круглодонную колбу на 100 см³.

На подготовленную колонку наносят 4 см³ экстракта, полученного по 11.2.1.

Затем колонку последовательно промывают 10 см³ ацетонитрила и 10 см³ толуола.

Отбирают 10 см³ очищенного экстракта (в зависимости от чувствительности используемой хромато-масс-спектрометрической системы объем используемого экстракта допускается изменять), упаривают на ротационном испарителе при температуре 50 – 55 °С досуха, растворяют в 1 см³ смеси ацетонитрил:толуол (3:1), переносят в вials и используют для ГХ-МС анализа.

Для проб с высоким содержанием жира перед введением в инжектор газового хроматографа рекомендуется ее ацетонетрильно-толуольный раствор выдержать в морозильном шкафу при температуре не выше -20 °С не менее 2 часов, а затем незамедлительно (не допуская растворения выпавшей жировой фазы) пропустить жидкую фракцию через шприцевой фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм.

Отбирают 10 см³ очищенного экстракта (в зависимости от чувствительности используемой хромато-масс-спектрометрической системы объем используемого экстракта допускается изменять), упаривают на ротационном испарителе при температуре 50 – 55 °С досуха, растворяют в 1 см³ 10 % раствора ацетонитрила в деионизованной воде и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

11.3.2 Твердофазная очистка экстракта пробы меда

В картридж для твердофазной очистки помещают тампон из стекловаты, затем насыпают 0,5 г сорбента C18 и уплотняют тампоном из стекловаты.

Картридж помещают в вакуумное устройство для твердофазной экстракции, кондиционируют последовательно 10 см³ метанола и 10 см³ деионизованной воды.

На подготовленный картридж наносят экстракт, полученной по 11.2.2. При необходимости применяют вакуум (скорость потока устанавливают не более чем 1 капля в секунду).

После этого картридж сушат под вакуумом, подставляют круглодонную колбу на 100 см³ и элюируют пробу последовательно 10 см³ ацетонитрила и 10 см³ толуола.

Затем содержимое круглодонной колбы перемешивают.

Отбирают 10 см³ очищенного экстракта (в зависимости от чувствительности используемой хромато-масс-спектрометрической системы объем используемого экстракта допускается изменять), упаривают на ротационном испарителе при температуре 50 – 55 °С досуха, растворяют в 1 см³ смеси ацетонитрил:толуол (3:1) и используют для ГХ-МС анализа.

Отбирают 10 см³ очищенного экстракта (в зависимости от чувствительности используемой хромато-масс-спектрометрической системы объем используемого экстракта допускается изменять), упаривают на ротационном испарителе при температуре 50 – 55 °С досуха, растворяют в 1 см³ 10% раствора ацетонитрила в деионизованной воде и используют для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

11.3.3 Твердофазная очистка экстракта проб высокожирных продуктов для ВЭЖХ-МС/МС анализа

Отбирают 1,5 см³ надосадочной жидкости полученной по п. 11.2.3 в пластиковые центрифужные пробирки объемом 2 см³ типа эппендорф и добавляют 100 мг MgSO₄ и 450 мг сорбента C18, встряхивают на вортексе 10 мин и центрифугируют 10 минут при 15000 об/мин. Отбирают 1 см³ надосадочной жидкости в виалу и упаривают досуха в потоке воздуха при 45°С. Перерастворяют в 0,2 см³ метанола (в зависимости от чувствительности используемой хромато-масс-спектрометрической системы объем метанола допускается изменять), переносят во вставку для виалы и анализируют методом ВЭЖХ/МС-МС.

12 Выполнение измерений

12.1 Условия проведения анализа методом ВЭЖХ-МС/МС

Устанавливают условия работы прибора, позволяющие надежно идентифицировать анализируемые компоненты во всем диапазоне определяемых

концентраций с требуемыми метрологическими характеристиками и исключаящие влияние матрицы на результат анализа.

Рекомендуемые хроматографические условия для колонки обращено-фазной ВЕН C18 (1,7 мкм, 1,0×100 мм) представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Условия хроматографирования инсектоакарицидов методом ВЭЖХ-МС/МС

Параметр хроматографа	Значение параметра
Колонка	ВЕН C18 (1,7 мкм, 1,0×100 мм)
Температура колонки	30 °C
Подвижная фаза	$A = H_2O + NH_4HCO_2 + HCOOH$,
	$B = ACN$
Градиент	100% А до 0,5 мин, 100-20% А до 5 мин, 20-0% А до 6 мин, 0% А до 8 мин, 0-100% А до 8,1 мин, 100% А до 18 мин
Скорость потока	0,1 мл/мин
Объем вводимой пробы	0,01 см ³
Температура в отсеке устройства ввода проб	20 °C

Рекомендуемые условия работы масс-спектрометрического детектора представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Условия MRM-переходов

Ион-предшественник, m/z	Дочерний ион, m/z	Аналит	Напряжение фрагментатора, В	Энергия соударений, В
332,125	163,9	Тетраметрин 1	71	33
332,125	135,1	Тетраметрин 2	71	23
349,843	96,9	Хлорпирифос 1	66	49
349,843	197,9	Хлорпирифос 2	66	29

Ион-предшественник, m/z	Дочерний ион, m/z	Аналит	Напряжение фрагментатора, В	Энергия соударений, В
528,078	293,031	Индоксакарб 1	80	20
528,078	218,042	Индоксакарб 2	80	40
255,808	208,9	Имидаклоприд 1	66	21
255,808	175	Имидаклоприд 2	66	27
305,019	169	Диазинон 1	66	29
305,019	153	Диазинон 2	66	27
278,983	169	Фентион 1	76	25
278,983	247	Фентион 2	76	17
466,955	124,9	Темефос 1	111	47
466,955	418,9	Темефос 2	111	25
222,815	126	Ацетамиприд 1	76	27
222,815	90	Ацетамиприд 2	76	43
166,955	85	Циромазин 1	76	23
166,955	125,1	Циромазин 2	76	23

Для количественного расчета рекомендуется использовать наиболее интенсивный из регистрируемых дочерних ионов (основной), остальные регистрируемые ионы выступают в качестве подтверждающих и в определении концентрации не участвуют.

12.2 Условия проведения анализа методом ГХ-МС

Устанавливают условия работы прибора, позволяющие надежно идентифицировать анализируемые компоненты во всем диапазоне определяемых концентраций с требуемыми метрологическими характеристиками и исключаящие влияние матрицы на результат анализа.

Рекомендуемые хроматографические условия для колонки VF-5ms (50m, 0,25mm, 0,25µm) представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Условия хроматографирования инсектоакарицидов методом ГХ-МС

Наименование характеристики	Значение характеристики
Газ-носитель	Гелий
Скорость потока газа носителя	1 см ³ /мин
Объем вводимой пробы	0,001 см ³
Режим работы инжектора	Без деления потока
Температура инжектора	260 °С
Температурная программа колонки	Начальная температура 60 °С – 2 мин, Нагрев от 60 °С до 180 °С со скоростью 20 °С/мин, Изотерма при 180 °С 2 мин, Нагрев от 180 °С до 245 °С со скоростью 2 °С/мин, Изотерма при 245 °С 2 мин, Нагрев от 245 °С до 265 °С со скоростью 4 °С/мин, Изотерма при 265 °С до 70 мин, Время анализа 70 мин.

Рекомендуемые условия работы масс-спектрометрического детектора представлены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7 – Параметры работы источника масс-спектрометрического детектора

Параметр	Значение
Температура ионного источника	250 °С
Режим ионизации	Электронный удар
Режим регистрации ионов	Селективный ионный мониторинг (SIR)

Таблица 8 – Настройка режима работы масс-спектрометра (SIR)

№ п. п.	Соединение	Масса, m/z
1	Фипронил	367
2	Бета-цифлутрин	163
3	Пропоксур	110
4	Эсфенвалерат	125
5	Малатион	125
6	Хлорпирифос-метил	286

№ п. п.	Соединение	Масса, m/z
7	Фенвалерат	125
8	Бифентрин	181
9	Дельтамитрин	181
10	Циперметрин	163
11	Лямбда-цигалотрин	181
12	Карбарил	144
13	Перметрин	183

12.3 Получение градуировочной зависимости для определяемых компонентов

Построение и расчет градуировочной характеристики проводят в каждой серии анализов. Проводят измерения не менее трех матричных градуировочных растворов, приготовленных по п. 10.2, обязательно включая раствор G1, в условиях 12.1.

При установлении градуировочной зависимости, используют линейную функцию вида:

$$y = ax + b \quad (1),$$

где:

x – массовая доля инсектоакарицида в градуировочном растворе,

y – площадь пика инсектоакарицида в градуировочном растворе.

Градуировочная зависимость считается приемлемой, если рассчитанное программным обеспечением значение квадрата коэффициента корреляции для калибровочной кривой каждого аналита не менее 0,98.

Пример хроматографического разделения инсектоакарицидов, содержащихся в градуировочном образце, показан в приложениях А и Б

12.4 Проведение измерения

В инжектор хроматографа вводят анализируемый экстракт, полученный по п. 11 в условиях, указанных в п.12.1. Регистрируют масс-хроматограммы ионов, указанных в таблице 5 и 8.

Для контроля уровня контаминации пестицидами возникающей в ходе подготовки пробы к анализу, а также чистоты, используемой для построения градуировочной зависимости матрицы, каждая серия испытаний должна включать в себя холостую пробу (п. 10.6). В случае выявления в холостой пробе сигналов какого-либо из анализируемых веществ с интенсивностью более половины его интенсивности сигнала в растворе G1, то результаты определения массовой доли данного анализируемого вещества считаются не приемлемыми. Требуется провести процедуры по устранению контаминации (например, замена матрицы, реактивов, очистка хромато-масс-спектрометрической системы и т.д.).

Идентификацию пестицидов проводят на основании времени удерживания и соотношения MRM переходов ион-предшественник – ион-продукт (где применимо). Инсектоакарицид в анализируемой пробе считается идентифицированным, если выполнены следующие условия:

- время удерживания идентифицированного пика совпадает с временем его удерживания, полученным при установлении градуировочной зависимости;
- идентифицированный по времени удержания основной MRM переход подтверждается наличием совпадающего по времени удержания по крайней мере одного подтверждающего MRM перехода (где применимо);
- соотношение площадей пиков основного и подтверждающего ионов идентифицированного инсектоакарицида на хроматограммах MRM переходов наиболее близкого по концентрации к исследуемой пробе градуировочного раствора, используемого для построения градуировочной характеристики, и анализируемой пробы должно иметь расхождение не более $\pm 40 \%$ (где применимо).

12.5 Обработка результатов измерений

Обработка результатов измерений проводится программным обеспечением хроматографа.

Определение площадей инсектоакарицидов проводят по MRM переходам основных ионов (где применимо).

Расчет концентрации производят с использованием градуировочных зависимостей, полученных по п. 12.3.

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 обнаруженного инсектоакарицида, млн^{-1} (мг/кг);

r – значение предела повторяемости для обнаруженного инсектоакарицида, указанное в таблице 1.

Если условие (2) не выполняется, получают еще два результата в полном соответствии с данной методикой измерений. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие:

$$\frac{4 \cdot |X_{\max} - X_{\min}| \cdot 100}{(X_1 + X_2 + X_3 + X_4)} \leq CR_{0,95} \quad (3),$$

где:

$X_{\max}, X_{\min}$ – максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой доли обнаруженного инсектоакарицида, млн^{-1} (мг/кг);

$CR_{0,95}$ – значение критического диапазона для уровня вероятности $P = 0,95$ и n – результатов определений.

$$CR_{0,95} = f(n) \cdot \sigma_r,$$

для $n = 4$

$$CR_{0,95} = 3,6 \cdot \sigma_r \quad (4),$$

где:

σ_r – показатель повторяемости обнаруженного инсектоакарицида, % (таблица 1).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

12.6 Оформление результатов измерений

Результаты измерений массовой доли инсектоакаридов округляют до двух значащих цифр и выражают в млн^{-1} (мг/кг).

Массовую концентрацию i -го инсектоакарицида, мг/кг, представляют в виде

$$(X_i \pm \Delta_i), P=0,95 \text{ либо } (X_i \pm U_i),$$

где:

X_i – среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, млн^{-1} (мг/кг);

Δ_i – характеристика погрешности, мг/кг, при $P=0,95$, значение рассчитывают по формуле:

$$\Delta_i = 0,01 \delta_i X, \text{ млн}^{-1} \text{ (мг/кг)} \quad (5),$$

где:

δ_i – относительное значение показателя точности методики i -го инсектоакарицида, которое приведено в таблице 1.

U_i – расширенная неопределенность при $k=2$, вычисляемая по формуле:

$$U_i = 0,01 U_{(\text{отн})} X \quad (6),$$

где:

$U_{(\text{отн})}$ – значение относительной расширенной неопределенности содержания i -го инсектоакарицида для соответствующего диапазона измерений, %, в соответствии с таблицей 1.

В случае, если массовая доля инсектоакарицида ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, производят следующую запись в журнале: «массовая доля инсектоакарицида _____ менее (более) _____ млн⁻¹ (мг/кг)».

13 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности

Расхождение между результатами измерений, полученными в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности, не должно превышать предела внутрилабораторной прецизионности:

$$\left| X_1 - X_2 \right| \leq 0,01 R_{\text{л}} \frac{X_1 + X_2}{2} \quad (7),$$

где:

X_1 и X_2 – результаты измерений массовой доли индивидуальных веществ инсектоакарицидов, полученные в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности, млн⁻¹ (мг/кг);

$R_{\text{л}}$ – предел внутрилабораторной прецизионности, выраженный в относительных единицах. Значения предела внутрилабораторной прецизионности приведены в таблице 9.

При выполнении условия (7) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их среднее арифметическое значение.

Таблица 9 – Относительные значения пределов внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P=0,95$

Наименование аналита	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг ⁻¹ (мг/кг)	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R _л , %	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях воспроизводимости), R, %
Ацетамиприд	от 0,005 до 0,05 включ.	35	42
	св. 0,05 до 0,1 включ.	26	30
бета-Цифлутрин	от 0,005 до 0,05 включ.	35	42
	св. 0,05 до 0,1 включ.	26	30
Бифентрин	от 0,005 до 0,2 включ.	35	42
	св. 0,2 до 1,0 включ.	26	30
Дельтаметрин	от 0,005 до 0,2 включ.	35	42
	св. 0,2 до 1,0 включ.	19	22
Диазинон	от 0,01 до 0,2 включ.	35	42
Имидаклоприд	от 0,01 до 0,05 включ.	35	42

Наименование аналита	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг ⁻¹ (мг/кг)	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R _л , %	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях воспроизводимости), R, %
	св. 0,05 до 0,2 включ.	23	28
Индоксакарб	от 0,025 до 0,5 включ.	35	42
Карбарил	от 0,01 до 0,2 включ.	42	50
	св. 0,2 до 5,0 включ.	19	22
лямбда-Цигалотрин	от 0,01 до 0,2 включ.	42	50
	св. 0,2 до 5,0 включ.	19	22
Малатион	от 0,005 до 0,02 включ.	28	33
	св. 0,02 до 0,1 включ.	21	25
Перметрин	от 0,01 до 0,1 включ.	42	50
	св. 0,1 до 5,0 включ.	19	22

Наименование аналита	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг ⁻¹ (мг/кг)	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R _л , %	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях воспроизводимости), R, %
Пропоксур	от 0,005 до 0,1 включ.	33	39
Темефос	от 0,005 до 0,1 включ.	33	39
Тетраметрин	от 0,05 до 1,0 включ.	33	39
Фенвалерат	от 0,005 до 0,02 включ.	42	50
	св. 0,02 до 0,1 включ.	16	19
Фентион	от 0,005 до 0,1 включ.	28	33
Фипронил	от 0,005 до 0,02 включ.	42	50
	св. 0,02 до 0,1 включ.	28	33
Хлорпирифос	от 0,05 до 0,2 включ.	35	42
	св. 0,2 до 1,0 включ.	28	33

Наименование аналита	Диапазон измерений массовой доли, мг/кг ⁻¹ (мг/кг)	Предел внутрилабораторной прецизионности (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях внутрилабораторной прецизионности), R _л , %	Предел воспроизводимости (допускаемое для принятой вероятности P=0,95 расхождение между двумя результатами анализа, полученными в условиях воспроизводимости), R, %
Хлорпирифос-метил	от 0,005 до 0,02 включ.	37	44
	св. 0,02 до 0,1 включ.	23	28
Циперметрин	от 0,01 до 0,2 включ.	35	42
	св. 0,2 до 5,0 включ.	16	19
Циромазин	от 0,05 до 1,0 включ.	35	42
Эсфенвалерат	от 0,005 до 0,1 включ.	33	39

14 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.

Периодичность получения результатов контрольных процедур и формы их регистрации приводят в документах лаборатории, устанавливающих порядок и

содержание работ по организации методов контроля стабильности результатов измерений в пределах лаборатории.

14.1 Оперативный контроль процедуры измерений

Оперативный контроль процедуры измерений проводит исполнитель измерений с целью проверки готовности лаборатории к проведению измерений рабочих проб или оперативной оценки качества результатов измерений, полученных совместно с результатом контрольного измерения. Оперативный контроль проводят в следующих случаях:

- при внедрении методики;
- при появлении факторов, которые могут повлиять на стабильность результатов измерений (смена реактивов, использование средств измерений после ремонта и т.д.);
- при получении двух из трёх последовательных результатов измерений рабочих проб в виде медианы.

Оперативный контроль процедуры измерений проводит непосредственно исполнитель измерений на основе оценки отдельно взятой контрольной процедуры (K_k) и сравнения результата процедуры с нормативом контроля (K).

Оперативный контроль процедуры измерений проводят по следующей схеме:

- проведение контрольного измерения и получение результата контрольной процедуры;
- расчёт результата контрольной процедуры (K_k);
- расчёт норматива контроля (K).

Реализация решающего правила контроля – сопоставление результата контрольной процедуры с нормативом контроля и выводы по результатам контроля.

Оперативный контроль процедуры измерений может быть проведён с применением метода добавок (по 14.2).

Применение метода добавок используют при наличии условий для создания проб с введенными добавками, адекватных анализируемым пробам и при отсутствии образцов для контроля.

При организации контроля исполнитель анализа в соответствии с выбранным алгоритмом проведения контрольной процедуры анализа выбирает (при необходимости готовит) средства контроля.

Результаты контрольных измерений, полученные при оперативном контроле процедуры анализа, проводимом с каждой серией рабочих проб, могут быть использованы при реализации любой из форм контроля стабильности результатов анализа.

14.2 Оперативный контроль процедуры измерений с применением метода добавок

Средствами контроля являются:

- пробы, исследуемые по методике (рабочие пробы);
- пробы продукции, исследуемые по методике с известной добавкой индивидуальных веществ инсектоакарицидов (рабочие пробы с добавкой).

Рабочие пробы для проведения оперативного контроля выбирают таким образом, чтобы массовая доля индивидуальных веществ инсектоакарицидов в пробе с добавкой не превышала верхней границы диапазона измерений. Анализируемую пробу делят на 2 равные части. Одну часть оставляют без изменения, во вторую делают добавку индивидуальных веществ инсектоакарицидов C_0 , в зависимости от показателя внутрилабораторной прецизионности согласно Приложению С.

В соответствии с данной методикой в условиях повторяемости получают результаты контрольных измерений массовой доли пестицидов в рабочей пробе – X_n и в рабочей пробе с внесённой известной добавкой индивидуальных веществ инсектоакарицидов – X_{n+0} .

Результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X_{n+\partial} - X_n - C_\partial, \text{ млн}^1 (\text{мг/кг}) (8),$$

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta_{\text{Л } X_{n+\partial}}^2 + \Delta_{\text{Л } X_n}^2}, \text{ млн}^1 (\text{мг/кг}) (9),$$

где:

$\pm \Delta_{\text{Л } X_{n+\partial}}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой доли индивидуального вещества инсектоакарицидов в пробе с добавкой, рассчитанная по формуле:

$$\Delta_{\text{Л } X_{n+\partial}} = 0,01 \delta_{\text{Л}} X_{n+\partial}, \text{ млн}^1 (\text{мг/кг}) (10),$$

где:

$\pm \Delta_{\text{Л } X_n}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, соответствующая массовой доли индивидуального вещества инсектоакарицидов в пробе, рассчитанная по формуле:

$$\Delta_{\text{Л } X_n} = 0,01 \delta_{\text{Л}} X_n, \text{ млн}^1 (\text{мг/кг}) (11),$$

где:

$\pm \delta_{\text{Л}}$ – относительное значение характеристики погрешности результатов измерений.

Реализация решающего правила контроля.

$$|K_k| \leq K (12)$$

При невыполнении этого условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (12) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительному результату, и принимают меры к их устранению.

Примечание – Если в рабочей пробе установлено отсутствие инсектоакарицидов на уровне нижней границы диапазона измерений, установленного методикой измерений, то эта рабочая проба с введённой добавкой индивидуального вещества инсектоакарицидов C_∂ может служить образцом для контроля с аттестованным значением C_∂ . В этом случае результат контрольной процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = X - C_\partial, \text{ млн}^1 (\text{мг/кг}) (13),$$

где:

X – результат контрольного измерения массовой доли индивидуальных веществ инсектоакарицидов в образце для контроля;

C_0 – массовая доля введенной добавки, мг/кг.

Приложение А

(справочное)

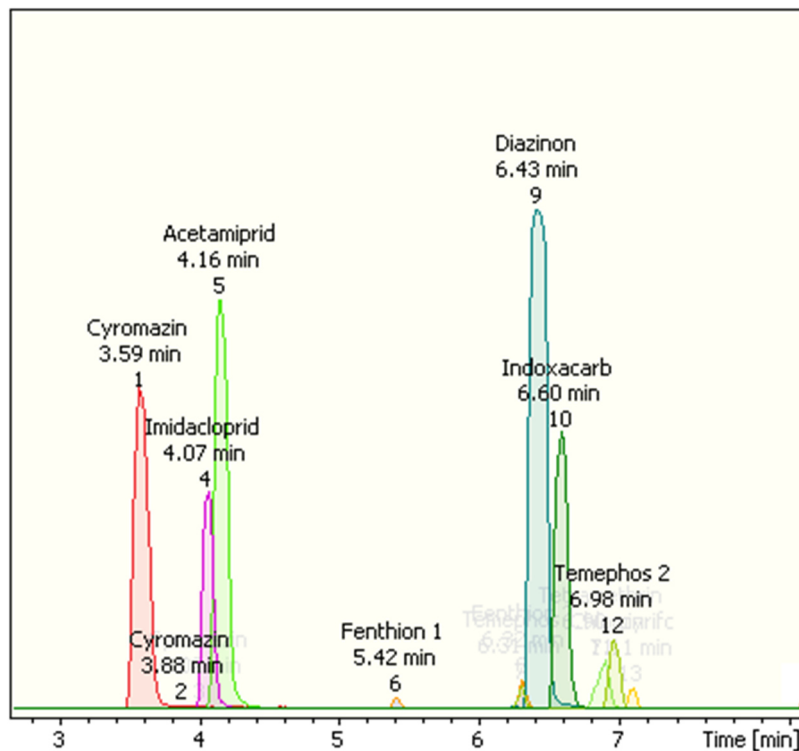


Рисунок А. 1 – Масс-хроматограмма определяемых инсектоакарицидов в градуировочном растворе G3

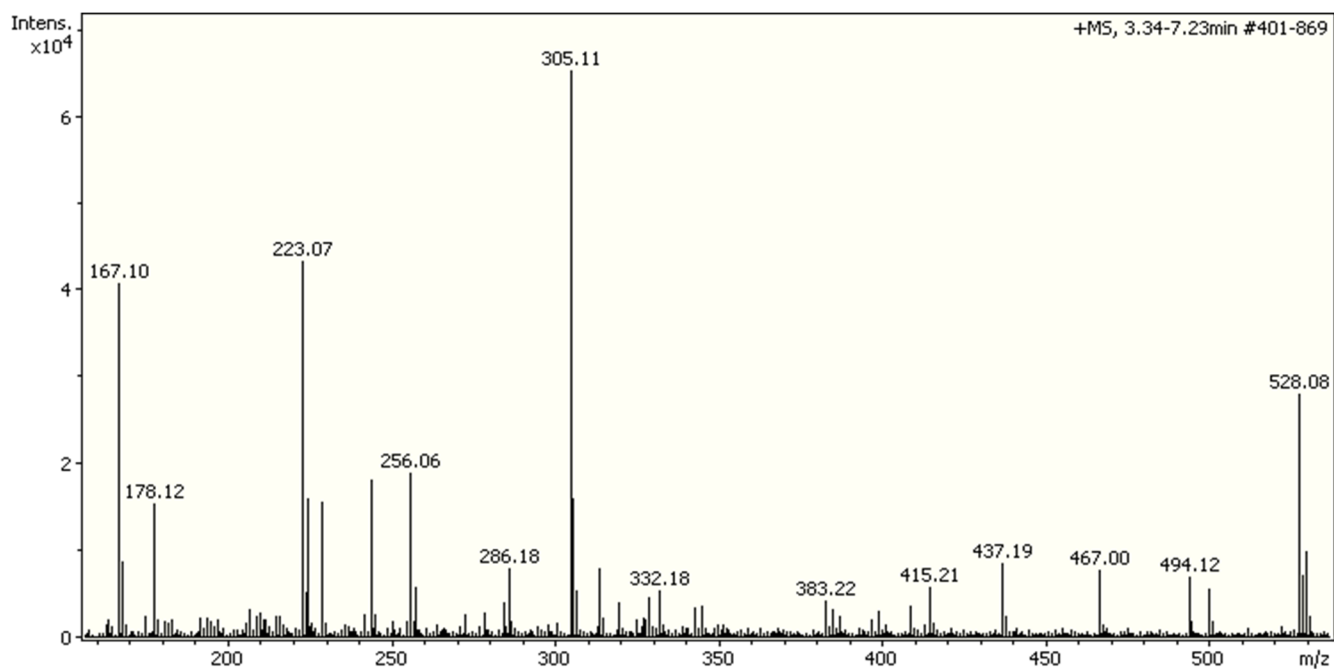


Рисунок А.2 – Масс-спектр определяемых инсектоакарицидов в градуировочном растворе G3

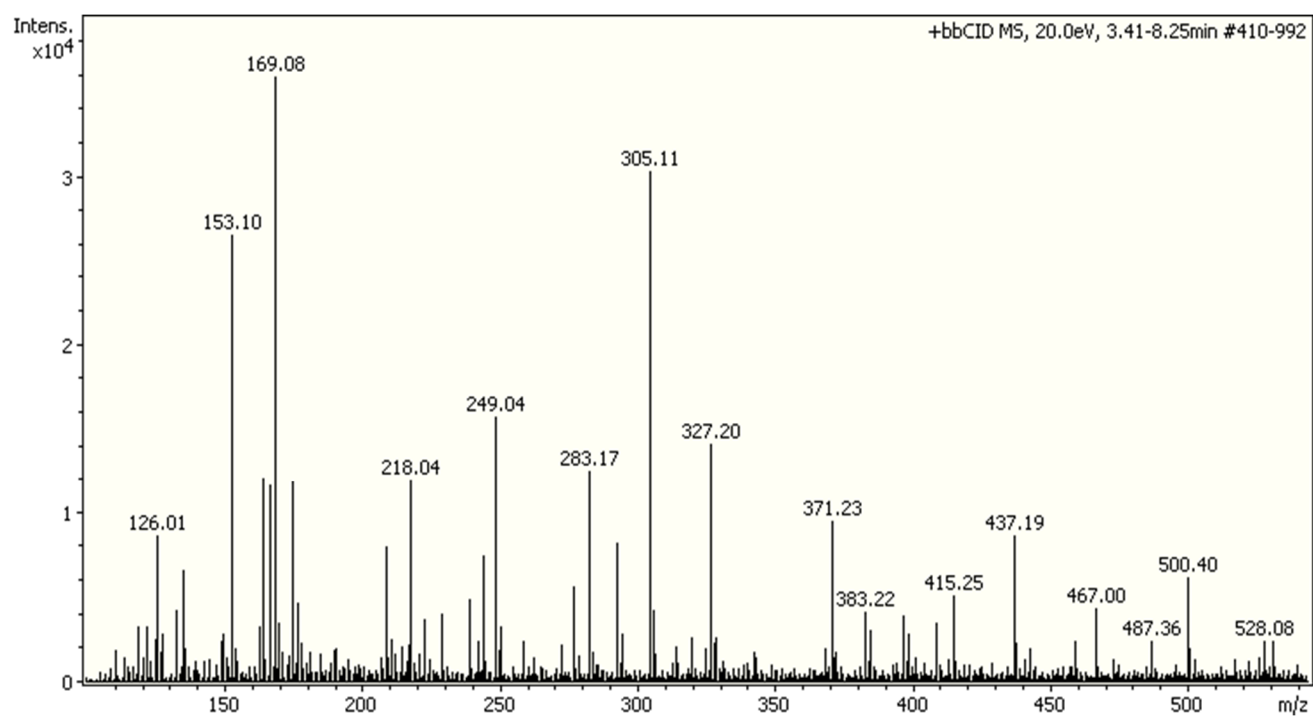


Рисунок А. 3 – Масс-спектр дочерних ионов определяемых инсектоакарицидов в градуировочном растворе G3

Приложение Б

(справочное)

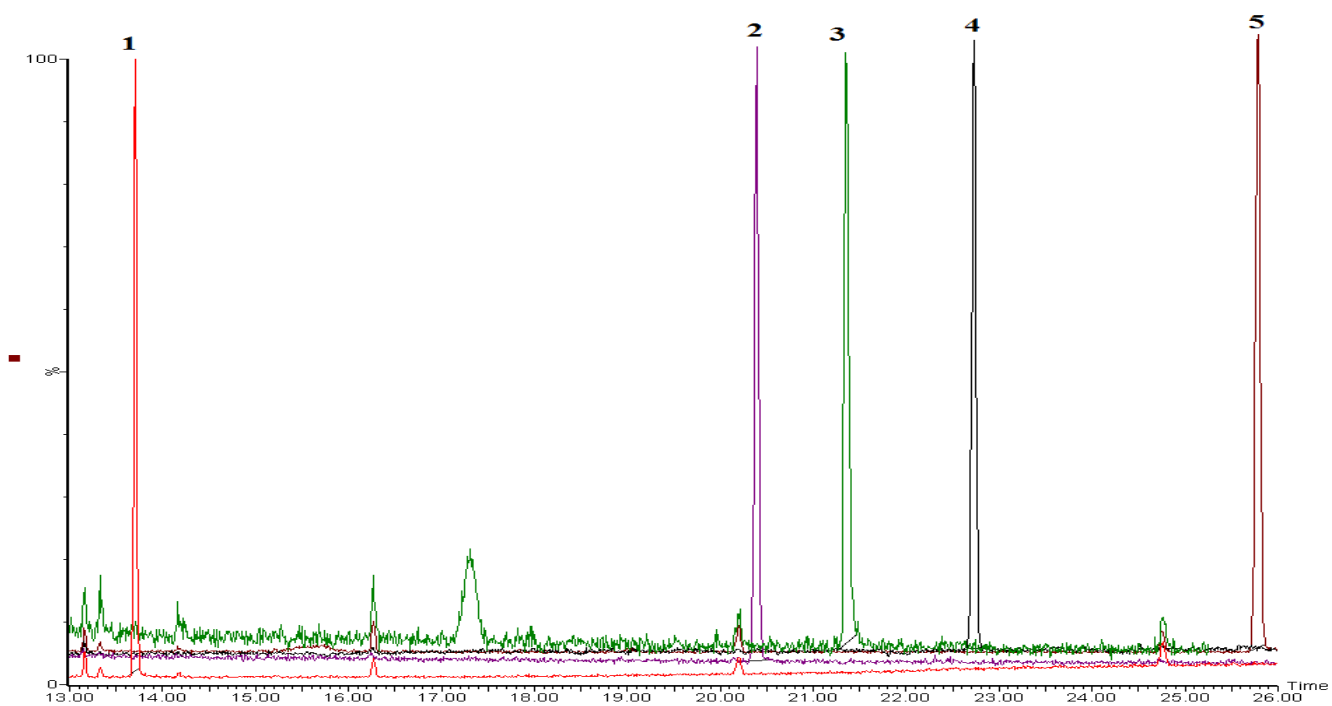


Рисунок Б1 – Масс-хроматограмма определяемых инсектоакарицидов в градуировочном растворе G3 13 – 26 мин. Пропоксур (1), Хлорпирифос-метил (2), Карбарил (3), Малатион (4), Фипронил (5)

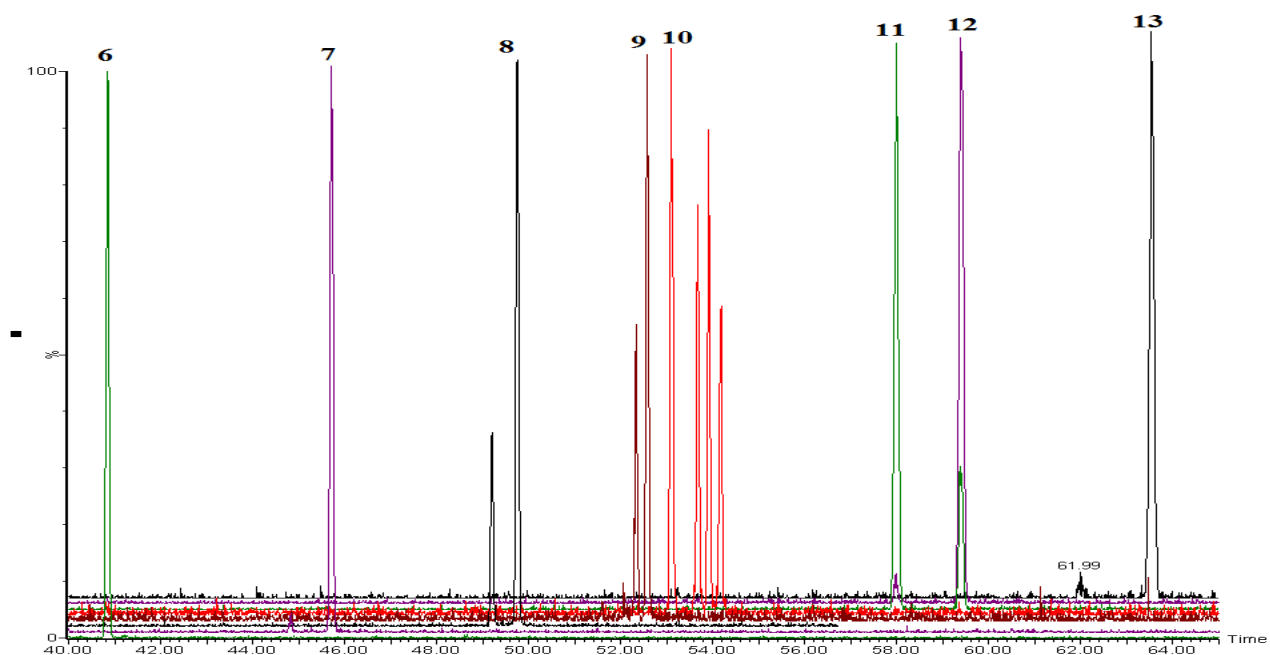


Рисунок Б2 – Масс-хроматограмма определяемых инсектоакарицидов в градуировочном растворе G3 40 – 65 мин. Бифентрин (6), Лямбда-цигалотрин (7), Перметрин (8), Бета-цифлутрин (9), Циперметрин (10), Фенвалерат (11), Эсфенвалерат (12), Дельтаметрин (13)

Приложение С

(справочное)

Добавка к пробе (разбавленной пробе) и коэффициент разбавления в зависимости от показателя внутрилабораторной прецизионности.

Таблица С.1 – Значения величины добавки к пробе (разбавленной пробе) и коэффициента разбавления в зависимости от показателя внутрилабораторной прецизионности

Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{R,L}$, % содержания компонента в пробе	Значение величины добавки ω , % содержания компонента в пробе, не менее	Коэффициент разбавления пробы η , не менее
12	63	1,6
13	70	1,7
14	78	1,8
15	86	1,9
16	94	1,9
17	100	2,0
18	110	2,1
19	120	2,2
20	130	2,3
21	140	2,4
22	160	2,6
23	170	2,7

МУ А-1/131

(обозначение документа,
регламентирующего методику измерений)

Ключевые слова:

пестициды, инсектоакарициды, пищевые продукты животного происхождения, мясо, пищевые мясные субпродукты, рыба, нерыбные объекты промысла, молочная продукция, яйца, мёд, тетраметрин, циромазин, хлорпирифос, индоксакарб, имидаклоприд, диазинон, фентион, темефос, ацетамиприд, фипронил, бета-цифлутрин, пропоксур, эсфенвалерат, малатион, хлорпирифос-метил, фенвалерат, бифентрин, дельтаметрин, циперметрин, лямбда-цигалотрин, карбарил, перметрин, хроматография, масс-спектрометрия

Руководитель разработки:

Заместитель директора

(должность)

(личная подпись)

А.В. Третьяков

(инициалы, фамилия)

Исполнители:

Ведущий научный
сотрудник отдела
безопасности пищевой
и кормовой продукции

(должность)

(личная подпись)

А.М. Лебедев

(инициалы, фамилия)

Директор института
молекулярной
тераностики¹

(должность)

(личная подпись)

А.Е. Носырев

(инициалы, фамилия)



¹ В части разработки: масло, шпик, жировая ткань.