Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств металаксила в алкогольной продукции методом капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Методические указания
МУК 4.1.3485—17

Издание официальное

Москва • 2019

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств металаксила в алкогольной продукции методом капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Методические указания
МУК 4.1.3485—17

ББК 51.23
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств металаксила в алкогольной продукции методом капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019.—14 с.

ISBN 978–5–7508–1710–8

1. Разработаны ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» (С. Г. Сафонкина, Л. В. Иванова, А. Ю. Полторацкий, Е. В. Солопов, И. Е. Рамишвили, Н. А. Ахметзянова).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 20 сентября 2017 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978–5–7508–1710–8

© Роспотребнадзор, 2019

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
20 сентября 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств металаксила в алкогольной продукции методом капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Методические указания
МУК 4.1.3485—17

I. Общие положения и область применения

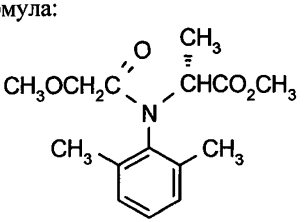
1.1. Настоящие методические указания (далее – МУК) устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения остаточных количеств металаксила в диапазоне 0,005—2,0 мг/л.

1.2. Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества: металаксил.

Название действующего вещества по ИЮПАК: метиловый эфир N-(2-метокси-ацетил)-N-(2,6-ксилил)-DL-аланина.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{21}NO_4$.

Молекулярная масса: 279,3.

Бесцветное кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления: 67,9 °С. Давление паров при 25 °С: 0,75 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 1,65. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: вода – 7,1; н-гексан – 9,1; бензол – 550; метанол – 650; дихлорметан – 750.

Вещество устойчиво к фотолизу и гидролизу в кислых и нейтральных условиях (DT_{50} > 200 дней), в щелочных условиях (pH 9) DT_{50} = 115 дней.

В биологически активных почвах в аэробных условиях металаксил разлагается со средним значением DT_{50} = 42—46 дней.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 633 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 3 100 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 3 600 мг/м^3 воздуха. LC_{50} для рыб > 100 мг/дм^3 (96 ч). Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел и дождевых червей.

Металаксил – системный фунгицид защитного и искореняющего действия из класса фениламидов. Высокоэффективен против возбудителей фитофтороза картофеля и томатов, милдью винограда, ложной мучнистой росы и корнееда овощных культур, сахарной свеклы и подсолнечника, увядания растений кукурузы.

1.3. МУК носят рекомендательный характер.

II. Погрешность измерений

2.1. При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P = 0,95 не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/л	Показатель точности (границы относительной погрешности, $P = 0,95$), $\pm\delta$, %	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, % ($P = 0,95$)
Образец алкогольной продукции	0,005—2,0	50	2,9	4,1	8,1	11,5

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/л	диапазон определяемых концентраций, мг/л	средняя полнота извлечения, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Образец алкогольной продукции	0,005	0,005—2,0	86,9	3,32	± 1,76

II. Метод измерений

2.1. Метод основан на определении металаксила с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором. Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

III. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором

Весы аналитические с пределом взвешивания до 110 г и допустимой погрешностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228
Весы лабораторные с пределом взвешивания до 160 г и допустимой погрешностью 0,005 г	ГОСТ Р 53228
Колбы мерные вместимостью 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 1-1-2-1; 1-1-2-2; 1-2-2-5; 1-2-2-10	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 1-25; 1-50; 1-250; 1-500; 1-1000	ГОСТ 1770
Микрошприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1—10 $см^3$	ТУ 64-1-2850

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

3.2. Реактивы

Металаксил, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,0 %	
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501
Гелий газообразный, очищенный (или азот)	ТУ 0271-135-31323949
Воздушная смесь газообразная или азот газообразный (допустимо использование генератора азота или воздушного компрессора)	
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ТУ 6-09-2662
Сорбент (смесь первичных и вторичных аминов (PSA), 40—63 мкм	
Сорбент С18 (октадецилсилан) 40—63 мкм для хроматографии	
Сульфат магния безводный, чда	
Натрий углекислый, чда	
Хлорид кальция, чда	
Ацетонитрил для ВЭЖХ	

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы:

Центрифуга с ротором под центрифужные стаканы объемом 50 см^3	
Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-2851
Стаканы центрифужные полипропиленовые объемом 50 см^3	
Флаконы пенициллиновые объемом 20 см^3	
Микроцентрифужные пробирки полипропиленовые объемом 2 см^3 типа «Эппендорф»	
Установка для выпаривания экстрактов в токе воздуха или азота с термоблоком до 100 °С	
Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, с нанесенной пленкой из смеси 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм	
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6-09-1678

Примечание. Допускается использование вспомогательных средств измерений, устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

IV. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать гигиенических нормативов[1]. Организация обучения работников безопасности труда осуществляется по ГОСТ 12.0.004.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см^2), необходимо соблюдать правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением (ПБ-03-576-03). Не допус-

[1] ГН 2.2.5.2308—07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны»; ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

кается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

V. Требования к квалификации операторов

5.1. К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа и уложившиеся в нормативы контроля.

VI. Условия измерений

6.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

– процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;

– измерения на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

VII. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов и раствора внесения, кондиционирование хроматографической колонки, проверка хроматографического поведения металаксила на колонке.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Хлористый метилен

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %.

Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого растворяют в конической колбе в 40—60 $см^3$ деионизованной воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем раствора до метки деионизованной водой. Срок хранения раствора – 1 неделя.

Хлористый метилен промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлорида кальция (приготовленного по ГОСТ 4517), сушат над безводным углекислым калием и перегоняют. Растворители хранят в темной посуде при комнатной температуре не более 14 дней.

7.2. Кондиционирование хроматографической колонки

7.2.1. Капиллярную кварцевую колонку устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280 °С и скорости газа-носителя 2 $см^3$/мин в течение 8—10 часов.

7.3. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.3.1. Исходный градуировочный раствор металаксила с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г металаксила, растворяют в 40—50 $см^3$ ацетонитрила, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –12 °С не более 3 месяцев.

7.3.2. Градуировочный раствор металаксила с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (раствор № 1). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного градуировочного раствора металаксила с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.3.1), доводят объем раствора до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов № 2—5.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше –12 °С не более месяца.

7.3.3. Градуировочные растворы металаксила с массовой концентрацией 0,2—2,0 мкг/$см^3$ (растворы № 2—5). В 4 мерные колбы вместимостью 50 $см^3$ помещают 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 $см^3$ градуировочного раствора № 1 металаксила с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (п. 7.3.2), доводят до метки смесью гексан – этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией металаксила 0,2; 0,4; 1,0 и 2,0 мкг/$см^3$ соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.4. Установление градуировочной характеристики

7.4.1. Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мкВ) от концентрации металаксила в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 1 $мм^3$ каждого градуировочного раствора (п. 7.3.3) и анализируют при условиях хроматографирования

по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

7.5. Экстракция и очистка

7.5.1. В центрифужную пробирку на 50 $см^3$ помещают 30 мл отобранной пробы и экстрагируют один раз 10 $см^3$ дихлорметана в течение 1 мин. Далее центрифугируют при 4 000 об./мин в течение 10 мин, отбирают дихлорметан в пенициллиновые флаконы на 20 $см^3$, пропуская его через сульфат натрия, и выпаривают в токе азота или вохдуха на термоблоке при температуре 50 °С. Полученный сухой экстракт перерастворяют в 1 мл ацетонитрила и переносят в центрифужную пробирку типа «Эппендорф» на 2 $см^3$, содержащую по 25 мг собрентов С18 и смеси первичных и вторичных аминов (PSA), встряхивают в течение 0,5 мин и центрифугируют при 6 000 об./мин в течение 5 мин или оставляют отстаиваться в течение 15 мин. Очищенный ацетонитрильный экстракт переносят в виалу для последующего хроматографического анализа.

Для проверки степени извлечения используют либо матрицу, не содержащую металаксила, либо готовят таковую путем трехкратной очистки дихлорметаном, в которую потом вносят 50 $мм^3$ раствора № 1.

VIII. Условия хроматографирования

8.1. Газовый хроматограф с масс-спектрометрическим детектором, снабженный приспособлениями для капиллярной колонки.

Хроматографическая кварцевая капиллярная колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, с нанесенной пленкой из смеси 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм.

Температура:

детектора – 295 °С;

испарителя – 270 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 170 °С, выдержка 2 мин; нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 230 °С, выдержка – 0 мин; нагрев колонки со скоростью 5 градусов в минуту до температуры 250 °С, выдержка 3 мин; нагрев со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 280 °С, выдержка – 10 мин.

Расход газов: газа-носителя (гелий) – 1,0 $см^3$/мин;

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

IX. Обработка результатов анализа

9.1. Концентрацию каждого идентифицированного соединения (*C*) определяют по градуировочной характеристике после компьютерного интегрирования хроматограммы соответствующего извлечённого иона в мг/дм^3.

Содержание в образцах рассчитывают методом внутреннего стандарта по формуле:

$$C = K \cdot C_{ст} \cdot \frac{S_{обр}}{S_{ст}}, \text{ где}$$

C – массовая концентрация металаксила, мкг/дм^3;

$C_{ст}$ – массовая концентрация добавленного внутреннего стандарта, мкг/дм^3;

$\frac{S_{обр}}{S_{ст}}$ – отношение площади пика металаксила в образце к площади пика внутреннего стандарта;

K – калибровочный коэффициент, получаемый из калибровочной кривой.

За результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений и выражают с точностью до одного десятичного знака.

X. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

При невыполнении условия выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

XI. Оформление результатов

11.1. Результат анализа представляют в виде:

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

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/ дм^3;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/ дм^3;

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание металаксила в алкогольной продукции – менее 0,005 дм^3»**

Примечание:

* – 0,005 дм^3 предел обнаружения в пробе.

XII. Контроль качества результатов измерений

12.1. Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6.

12.2. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание металаксила которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,005 до 2,0 мг/дм^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемых для контроля градуировочных растворов сохраняется соотношение:

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

X – концентрация металаксила в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора металаксила, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (B = 20 % при P = 0,95).

Если величина расхождения (A) превышает 20 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для даль-

нейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов фталатов, предусмотренных методом исследования. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.5.

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

12.3. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/дм^3, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3;

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми п. 10.1) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/дм^3.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}}\ .$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \leq K, \qquad (1)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (1) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (1) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

12.4. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (*R*):

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

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

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

Определение остаточных количеств металаксила в алкогольной продукции методом капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором

Методические указания
МУК 4.1.3485—17

Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 13.12.19

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 100 экз. Заказ 19

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19А
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 633-86-59

gost.e-ecolog.ru