Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств зоксамида в клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3517—17

Издание официальное

Москва • 2018

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 зоксамида в клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3517—17

ББК 51.23
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств зоксамида в клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—19 с.

ISBN 978–5–7508–1676–7

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (А. В. Довгилевич, О. И. Рыбакова, А. В. Попов, Е. Н. Тестова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 24 ноября 2017 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 29 декабря 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978–5–7508–1776–7

© Роспотребнадзор, 2018

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств зоксамида в клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

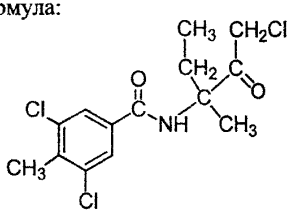
Методические указания МУК 4.1.3517—17

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств зоксамида в клубнях картофеля в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг, в ягодах винограда и виноградном соке в диапазоне 0,2—2,0 мг/кг. Методические указания носят рекомендательный характер.

Зоксамид

Название по ИЮПАК: (RS)-3,5-дихлор-N-(3-хлор-1-этил-1-метилацетонил)-р-толуамид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{14}H_{16}Cl_3NO_2$.

Молекулярная масса: 336,65.

Агрегатное состояние: тонкий белый порошок.

Цвет, запах: порошок с ликерным запахом.

Давление насыщенного пара: $< 1{,}3 \times 10^{-5}$ Па при 20 °С.

Температура плавления: 159,5—160,5 °С.

Плотность (г/см^3 при 20 °С): 1,38.

Коэффициент перераспределения октанол/вода: $K_{ow}\log P = 3,76$ (20 °С).

Растворимость в воде: (0,681 ± 0,017) мг/дм^3 (при 20 °С и pH 3—11).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3 при 20 °С): ацетон – 55,7; этилацетат – 20,0; ксилен – 1,56; н-октанол – 6,49; н-гептан – 0,038; 1,2-дихлорэтан – 12,5.

Гидролитически среднестабилен, $ДТ_{50}$ в воде 15 дней (при pH 4 и 7) и 8 дней (при pH 9,0); $ДТ_{50}$ при водном фотолизе 7,8 дней.

Период полураспада в почве: $ДТ_{50}$ – 2—10 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Зоксамид относится к веществам мало опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг) и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг), но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ (4 часа) для крыс более 5 300 мг/м^3 воздуха).

Умеренно раздражает слизистую глаз, не раздражает кожные покровы кроликов.

Не обладает мутагенным и тератогенным действием, не влияет на репродуктивность.

Область применения. Зоксамид – контактный фунгицид длительного защитного действия со специфической активностью против оомицетов. Относится к группе фунгицидов, которые взаимодействуют с тубулином ядра клетки и нарушают деление клеток. При норме расхода 120—200 г д.в./га высоко эффективен в борьбе с фитофторозом на картофеле и томатах, милдью на виноградниках и ложной мучнистой росой на огурцах.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ВДСД – 0,5 мг/кг массы человека.

ВМДУ в импортируемой продукции (мг/кг): картофель – 0,02; виноград – 5,0.

1. Погрешность измерений

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 полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для зоксамида

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Клубни картофеля	0,01—0,1 вкл.	50	3	8	12
Ягоды винограда	0,2—0,5 вкл.	25	2	5	7
	1,0—2,0 вкл.	20	3	9	12
Сок винограда	0,2—0,5 вкл.	25	2	6	8
	1,0—2,0 вкл.	20	4	11	15

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для зоксамида

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,1	84,8	6,6	2,6
Ягоды винограда	0,2	0,2—2,0	83,0	3,1	1,2
Сок винограда	0,2	0,2—2,0	90,1	5,9	2,5

2. Метод измерений

Метод основан на определении зоксамида методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием детектора по захвату электронов после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на колонке с флоризилом.

Идентификация проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность метода достигается за счет подбора колонки и условий программирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 400 г и пределом допустимой погрешности ± 0,5 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки мерные на 1,0; 2,0, 5,0 и 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки и с возможностью использования стандартного автосамплера с дозирующим объемом от 0,1 до 10 $мм^3$ для автоматического ввода пробы в хроматографическую систему; – компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Зоксамид, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,7 %	
Азот, осч	ГОСТ 9293—74

Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Гелий, очищенный	ТУ-51-940—80
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Флоризил (Магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш	

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Виалы объемом 2 $см^3$, закрываемые завинчивающейся или запрессовывающейся крышкой с тефлонированной резиновой прокладкой, прокалываемой микрошприцем для автоматического дозатора проб	
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием	

объемом 5 дм^3 и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 см^3	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 см^3, и 4 000 см^3 ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренний диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 5 % фенил- и 95 % метилсилико-на и толщиной пленки 0,25 мкм	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—2 000 см^3	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см^3 и приемной конической колбой объемом 1 000 см^3	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие, диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ 6-09-1678—86

Примечание. Допускается применение оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—90 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы на газожидкостном хроматографе, освоивший данную методику и подтвердивший эксперименталь-

но соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с флоризилом для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с флоризилом, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3.

Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Очистка гексана

Гексан, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. За-

тем гексан сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 $см^3$ аппарата для перегонки растворителей.

Гексан перегоняют при температуре 68,7 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 68,7 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией зоксамида 1,0 мг/см³. Взвешивают 50 мг зоксамида в мерной колбе объемом 50 $см^3$. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 1 используют для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранят в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.1.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией зоксамида 10,0 мкг/см³. Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$ и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 2 используют для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранят в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.1.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией зоксамида 2,0 мкг/см³. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 2 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 3 используют для установления градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.1.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией зоксамида 1,0 мкг/см³. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 4 используют для установления градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.1.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией зоксамида 0,5 мкг/см³. Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 5 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 5 используют для установления градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.1.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией зоксамида 0,2 мкг/см³. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 6 используют для установления

градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.1.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией зоксамида 0,1 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 7 используют для установления градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.1.8. Стандартный раствор № 8 с концентрацией зоксамида 0,05 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 7 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 8 используют для установления градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.1.9. Стандартный раствор № 9 с концентрацией зоксамида 0,02 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 7 отбирают пипеткой 2 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 9 используют для установления градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.1.10. Стандартный раствор № 10 с концентрацией зоксамида 0,01 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 7 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 10 используют для установления градуировочной характеристики и хранят в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.1.11. Стандартные растворы зоксамида в ацетоне с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы клубней картофеля. Методом последовательного разведения ацетоном стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы клубней картофеля. Стандартные растворы для внесения хранят в холодильнике не более 14 суток.

7.2.1.12. Стандартные растворы зоксамида в ацетоне с концентрацией 200; 100; 50 и 20 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы ягод винограда и виноградного сока. Методом последовательного разведения ацетоном стандартного раствора № 1 готовят растворы, содержащие по 200; 100; 50 и 20 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы ягод винограда и виноградного сока. Стандартные растворы для внесения хранят в холодильнике не более месяца.

7.3. Установление градуировочной характеристики.

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации зоксамида в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки:

– для определения зоксамида в клубнях картофеля по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,1; 0,05; 0,02 и 0,01 мкг/см^3;

– для определения зоксамида в ягодах винограда и виноградном соке и по 4 растворам для градуировки с концентрацией 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения зоксамида на ней

7.4.1. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г флоризила с зернением 60/100 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. Колонку промывают 15 мл ацетона, тщательно отжимают, затем промывают 10 мл гексана.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения зоксамида на колонке с флоризилом

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора зоксамида в ацетоне с концентрацией 0,1 мкг/см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 гексана, тщательно обмывая стенки концентратора, и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу последовательно обмывают 20 см^3 гексана, 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 10 : 1 и 4 порциями объемом 5 см^3 каждая смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1 и вносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы объемом 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 см^3 ацетона и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие зоксамид, полноту смывания с колонки и необходимый объем элюента.

Изучение поведения зоксамид на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии флоризила.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051-79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. Технические условия», ГОСТ Р 51808—13 «Картофель продовольственный. Технические условия», ГОСТ 26832—86 «Картофель свежий для переработки на продукты питания. ТУ», ГОСТ 32786—14 «Виноград свежий столовый. Технические условия», ГОСТ 32101—13 «Консервы. Продукция соковая. Соки фруктовые прямого отжима. Общие технические условия».

Пробы клубней картофеля и ягод винограда хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранятся в морозильной камере при температуре – 18 °С.

Пробы виноградного сока хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре + 4 °С не более 10 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Клубни картофеля и ягоды винограда

9.1.1. Экстракция

Навеску 10 г растительного материала помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 45 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр низкой плотности в концентратор объемом 250 $см^3$. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 30 $см^3$ ацетонитрила и помещая каждый раз на 30 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракты фильтруют, объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Ягоды винограда: перед упариванием на ротационном вакуумном испарителе из объединенного экстракта отбирают аликвоту, равную $^1/_{10}$ части объема, и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Сухой остаток в концентраторе, полученный по п. 9.1.1, растворяют в 5 $см^3$ ацетонитрила, обмывая стенки концентратора, добавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды и 10 $см^3$ насыщенного раствора хлори-

стого натрия, перемешивают содержимое в концентраторе и переносят в делительную воронку объемом 250 см^3.

Зоксамид экстрагируют тремя порциями гексана объемом 50, 30 и 30 см^3, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 мин. Нижний (водный) слой отбрасывают, а верхний (гексановый) слой собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 5 см^3 гексана, тщательно обмывают стенки концентратора, и наносят на подготовленную колонку. Элюат отбрасывают. Исходную колбу последовательно обмывают 20 см^3 гексана и 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 10 : 1, элюаты отбрасывают. Зоксамид элюируют с колонки 15 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 10 см^3 ацетона и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.2. Виноградный сок

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Навеску 10 г виноградного сока помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, добавляют 20 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия, 50 см^3 ацетонитрила и помещают на 45 мин на аппарат для встряхивания проб. После этого содержимое банки переносят в делительную воронку объемом 250 см^3. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой возвращают в банку для экстракции объемом 250 см^3, а верхний слой (ацетонитрил) собирают в коническую колбу объемом 250 см^3. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 25 см^3 ацетонитрила и помещая каждый раз на 30 мин на аппарат для встряхивания проб. Ацетонитрильные экстракты объединяют в коническую колбу объемом 250 см^3. Из объединенного экстракта отбирают аликвоту, равную $^1/_{10}$ части объема, переносят в концентратор объемом 250 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта как указано в п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей».

Сухой остаток растворяют в 10 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки и с возможностью использования стандартного автосамплера с дозирующим объемом от 0,1 до 10 $мм^3$ для автоматического ввода пробы в хроматографическую систему;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренний диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 5 % фенил- и 95 % метилсиликона и толщиной пленки 0,25 мкм.

Температура детектора: 300 °С, поддув в детектор постоянный (азот): 30,0 $см^3$/мин.

Температура испарителя: 260 °С, тип газа: гелий, режим сплит, давление: 123,21 кПа, деление потока: 175 : 1, поток 130,0 $см^3$/мин, поток обдува септы 3,0 $см^3$/мин.

Программированный нагрев колонки со 180 °С (выдержка 2 мин) по 5 град./мин до 240 °С, режим постоянный поток, поток колонки: 2,6 $см^3$/мин, средняя скорость: 48,6 см/с.

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,01—0,1 нг.

10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется компьютерное программное обеспечение химического анализа, которое входит в хроматографическую систему.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание зоксамида в пробах рассчитывают по формуле, без учета полноты извлечения вещества из проб:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P \text{, где}$$

X – содержание зоксамида в пробе, мг/кг;
$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;
$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мм;
A – концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;
V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;
m – масса анализируемого образца, г (см^3);
P – содержание зоксамида в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;
r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8 \times \sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;
Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

В случае если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«*содержание вещества в пробе менее 0,01 мг/кг**».

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание зоксамида в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,01 до 0,1 мкг/см^3 и от 0,2 до 2,0 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C)}{C} \cdot 100 \leq 12 \text{ (от 0,01 до 0,1 мкг/см}^3\text{) и 3 (от 0,2 до 2,0 мкг/см}^3\text{);}$$

где X – концентрация зоксамида контрольного измерения, мкг/см^3;

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

12 и 3 – погрешности градуировочных характеристик, %.

Если величина расхождения (A) превышает 12 или 3 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов зоксамида, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом «добавок».

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компо-

нента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/кг, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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 по п. 11), содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки соответственно, мг/кг.

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

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

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

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

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le R, \text{ где} \qquad (3)$$

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг;

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

Приложение 1

Полнота извлечения зоксамида из клубней картофеля, ягод и сока винограда (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено зоксамида, мг/кг	Обнаружено зоксамида, мг/кг	Полнота определения, %
Клубни картофеля	0,01	0,0084 ± 0,0003	84,0
	0,02	0,0165 ± 0,0006	82,6
	0,05	0,0397 ± 0,0004	79,4
	0,1	0,0932 ± 0,0034	93,2
Ягоды винограда	0,2	0,169 ± 0,0026	84,5
	0,5	0,399 ± 0,0083	79,8
	1,0	0,842 ± 0,0321	84,2
	2,0	1,670 ± 0,0448	83,2
Сок винограда	0,2	0,184 ± 0,0044	92,1
	0,5	0,484 ± 0,0126	96,8
	1,0	0,864 ± 0,0324	86,4
	2,0	1,700 ± 0,0805	85,0

Определение остаточных количеств зоксамида в клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3517—17

Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 25.12.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25

Тираж 100 экз. Заказ 84

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.: 8 (495) 633-86-59

gost.e-ecolog.ru