Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств протиоконазола по его основному метаболиту протиоконазолу-дестио в картофеле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3496—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 протиоконазола по его основному метаболиту протиоконазолу-дестио в картофеле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3496—17

ББК 51.23
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств протиоконазола по его основному метаболиту протиоконазолу-дестио в картофеле методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—19 с.

ISBN 978–5–7508–1649–1

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Н. Е. Федорова, М. В. Ларькина, О. Е. Егорченкова, С. К. Рогачева).

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 978–5–7508–1649–1

© 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 протиоконазола по его основному метаболиту протиоконазолу-дестио в картофеле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3496—17

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для измерения концентрации протиоконазола по его метаболиту протиоконазолу-дестио в картофеле в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

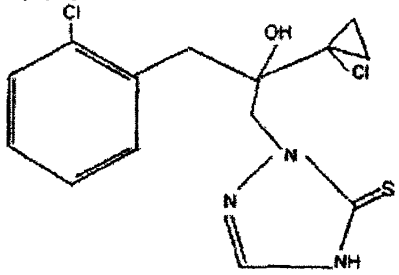
Методические указания носят рекомендательный характер.

Протиоконазол

Химический класс: триазолы.

2-[(RS)-2-гидрокси-2-(1-хлорциклопропил)-3-(2-хлорфенил)пропил]-2H-1,2,4-триазол-3(4H)-тион (IUPAC).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{14}H_{15}Cl_2N_3OS$.

Молекулярная масса: 344,3.

Белое или светло-бежевое твердое вещество без запаха. Температура плавления: 139,1—144,5 °С. Давление паров при 20 °С: $<< 4 \times 10^{-7}$ Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} logP = 4,16 (pH 4); 3,82 (pH 7) и 2,0 (pH 9). Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – более 250, этилацетат – более 250, дихлорметан – 88, ацетонитрил – 69; растворимость в воде – 0,005 (pH 4); 0,3 (pH 8) и 2,0 (pH 9).

Вещество стабильно при хранении на воздухе, а также в кислой (DT_{50} = 120 дней) и щелочной (DT_{50} > 1 года) средах. В присутствии света в водных фотолитических условиях протиоконазол достаточно быстро деградирует с периодом полураспада 47,7 часа. Основным продуктом фотодеградации является протиоконазол-дестио, его содержание составляет до 56 %.

В почве в полевых условиях протиоконазол подвергается быстрой деградации, DT_{50} составляет 1,3—2,8 дня (в среднем 1,7 дня), DT_{90} – 4,4—9,3 дня (в среднем 5,8 дня). Отмечена заметная сорбция протиоконазола почвой. Основным почвенным метаболитом является протиоконазол-дестио. DT_{50} протиоконазола-дестио в почве в полевых условиях составляет 16,3—72,3 дня (в среднем 42 дня), DT_{90} – 54,1—240 дней (в среднем 140 дней). Протиоконазол-дестио детектирован на пределе обнаружения (6 мкг/кг) в 10—20-сантиметровом слое. Максимальные его уровни наблюдались в период от 1 до 28 дней после применения, полное исчезновение (менее 6 мкг/кг) – после 55—240 дней.

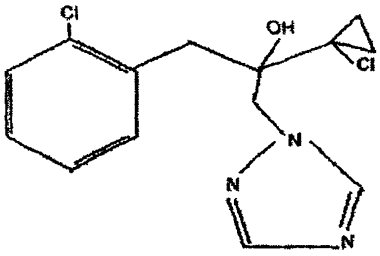
Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 6 200 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 4 990 мг/м^3 воздуха.

Протиоконазол не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз.

Основной метаболит протиоконазола: протиоконазол-дестио (SXX 0665)

α-(1-хлорциклопропил)-α-(2-хлорфенил)метил-1Н-1,2,4-триазол-1 этанол (IUPAC).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{14}H_{15}Cl_2N_3O$.

Молекулярная масса: 312,2.

Бесцветный порошок без запаха. Температура плавления: 108,5 °С. Давление паров при 20 °С: $2,7 \times 10^{-7}$ Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} logP = 3,04.

Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: гексан – 3, толуол – 84, ацетон – 100, ацетонитрил – 43, дихлорметан – более 200, вода – 0,051. Стабилен в кислой и щелочной средах.

Область применения препарата. Протиоконазол – фунгицид системного действия из группы ингибиторов синтеза эргостерина. Вещество обладает защитным, искореняющим и лечебным действием.

1. Метрологические характеристики

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

Таблица 1

Значения характеристики погрешности, нормативов оперативного контроля точности, повторяемости, воспроизводимости

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ± δ, %, $P = 0,95$	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, полученных в разных лабораториях), R, %, ($P = 0,95$)
Картофель	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	1,5	2,1	4	6

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

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	средняя полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Картофель	0,01	0,01—0,1	84,7	2,3	1,2

2. Метод измерений

Метод основан на экстракции метаболита протиоконазола-дестио из образцов картофеля водным раствором ацетона, очистке экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с оксидом алюминия с последующим измерением содержания протиоконазола-дестио методом капиллярной газожидкостной хроматографии при программировании температуры с термоионным детектором (ТИД) и/или масс-селективным детектором. Контроль протиоконазола в образцах картофеля осуществляется по содержанию протиоконазола-дестио. Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф, снабженный термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле 5×10^{-13} г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой

Газовый хроматограф, снабженный масс-селективным детектором и автоматическим пробоотборником, предназначенный для работы с капиллярной колонкой

Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности ± 0,1 мг ГОСТ Р 53228—08

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Микрошприц вместимостью 10 $мм^3$	
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Протиоконазол, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 96,5 %	
Азот газообразный (чистота 99,999 %) в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Гексан, осч	ТУ 6-09-06-657—84
Вода для лабораторного анализа (деионизованная или бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий марганцовокислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид кальция), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота серная (концентрированная), хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Натрий сернокислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
Оксид алюминия нейтральный, I степени активности, для колоночной хроматографии (200—400 меш)	

Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующей дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	ТУ 2504-1799—75
Баня водяная	
Бумажные фильтры средней и высокой плотности	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронка делительная на 250 $см^3$	
Воронки конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Гомогенизатор бытовой	
Колбы плоскодонные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 150 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Насос водоструйный вакуумный	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающий вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком вместимостью 100, 150 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90

Установка для перегонки растворителей
Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, содержащая сорбент: 50 % – фенилполисилоксан и 50 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,5 мкм)
Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенилполисилоксан и 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм)

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

4. Требования безопасности

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

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—15.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см^2), необходимо соблюдать федеральные нормы и правила в области промышленной безопасности «Правила промышленной безопасности опасных производственных объектов, на которых используется оборудование, работающее под избыточным давлением» (утв. приказом Ростехнадзора от 25.03.2014 № 116). Запрещается открывать вентиль баллона, не установив в нем понижающий редуктор.

5. Требования к оператору

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы на газовом хроматографе, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально 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 и относительной влажности не более 80 %;

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов и раствора внесения, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции и очистки экстрактов на колонке с оксидом алюминия, подготовка колонки с оксидом алюминия для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения протиоконазола-дестио на нем.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. Хлористый метилен и этилацетат

7.1.2.1. Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %. Навеску (25 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

7.1.2.2. Очистка растворителей. Каждый растворитель промывают последовательно 5%-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30. Раствор хранят в стеклянной посуде в течение 3 месяцев.

7.1.3. н-Гексан

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.2.1. Исходный раствор протиоконазола-дестио для градуировки (концентрация 200 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают (0,02 ± 0,0001) г протиоконазола-дестио, растворяют в 50—60 см³ ацетона, доводят им до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильнике при температуре не выше –18 °С в течение 3 месяцев.

7.2.2. Рабочий раствор № 1 протиоконазола-дестио для градуировки и внесения (концентрация 20 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10,0 см³ исходного раствора протиоконазола-дестио для градуировки с концентрацией 200,0 мкг/см³ (п. 7.2.1), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочий раствор № 1 для градуировки и внесения с концентрацией протиоконазола-дестио 20,0 мкг/см³.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильнике при температуре не выше –18 °С в течение 1 месяца.

7.2.3. Рабочие растворы № 2—8 протиоконазола-дестио для градуировки и внесения (концентрация 0,05—2 мкг/см³). В 7 мерных колбах вместимостью 100 см³ помещают 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 5,0; 7,5 и 10,0 см³ рабочего раствора № 1 протиоконазола-дестио для градуировки с концентрацией 20,0 мкг/см³ (п. 7.2.2), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—8 для градуировки и внесения с концентрациями протиоконазола-дестио 0,05; 0,1; 0,2; 0,5, 1,0; 1,5 и 2,0 мкг/см³.

Растворы хранят в морозильнике при температуре не выше –18 °С в течение 1 недели.

Эти растворы используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено» и контроля качества результатов измерений методом «добавок».

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика от концентрации протиоконазола-дестио в растворе, устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 растворам для градуировки (№ 3—7) при измерении по п. 9.4.1 и 4 растворам для градуировки (№ 1—4) при измерении по п. 9.4.2.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по

п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков протиоконазола-дестио.

7.4. Приготовление смеси ацетон–вода для экстракции

Смесь ацетон–вода (объемное соотношение 80 : 20). В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 800 см^3 ацетона и 20 см^3 воды, перемешивают.

7.5. Приготовление смеси гексан–этилацетат (85 : 15) для очистки экстрактов на колонке с оксидом алюминия

Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 85 : 15). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 85 см^3 гексана и 15 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.6. Приготовление смеси гексан–этилацетат (6 : 4) для очистки экстрактов на колонке с оксидом алюминия

Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 6 : 4). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 60 см^3 гексана и 40 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.7. Подготовка колонки с оксидом алюминия для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию: 5 г оксида алюминия нейтрального III степени активности в 15 см^3 смеси гексан–этилацетат (объемное соотношение 85 : 15), подготовленной по п. 7.6. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 85 : 15 порцией 20 см^3, скорость прохождения растворителя -- 1—2 кап./с. Колонка готова к работе.

7.8. Проверка хроматографического поведения протиоконазола-дестио на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,2 см^3 раствора № 1 протиоконазола-дестио с концентрацией 20 мкг/см^3 (п. 7.2.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 0,5 см^3 этилацетата, помещая на ультразвуковую баню на 1 минуту, добавляют 2,5 см^3 гексана, перемешивают, вновь помещают на ультразвуковую

баню на 1 минуту и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.7. Колбу обмывают дважды этой же смесью растворителей, порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 кап./с. Промывают колонку 30 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 85 : 15, элюат отбрасывают.

Затем колонку промывают 40 см^3 смеси гексан–этилацетат (6 : 4, по объему) со скоростью 1—2 кап./с. Фракционно (по 10 см^3) собирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 см^3 ацетона, анализируют содержание протиоконазола-дестио по п. 9.4.

Фракции, содержащие протиоконазол-дестио, объединяют и вновь анализируют.

Примечание. Проверку хроматографического поведения протиоконазоладестио следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб проводится в соответствии с правилами, определенными: ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый, ТУ» и «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Отобранные пробы картофеля хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике в темноте не более 5 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре – 18 °С. Перед анализом пробы измельчают с помощью гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, добавляют смесь ацетон–вода (80 : 20, по объему) в количестве 100 см^3 и помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут. Пробе дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют дважды, используя 70 см^3 смеси ацетон–вода (80 : 20, по объему), выдерживая каждый раз по 2 мин на ультразвуковой бане и 20 мин на аппарате для встряхивания. Осадок на фильтре промывают 30 см^3 той же смеси растворителей.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерный цилиндр на 250 см^3. Аликвоту ($^1/_2$ часть экстракта) помещают в колбу для упаривания на 150 см^3, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до водного остатка (объем 15—25 см^3) и подвергают очистке перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2, затем на колонке с оксидом алюминия по п. 9.3.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водный остаток, полученный по п. 9.1, переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Колбу дополнительно обмывают 50 см^3 деионизованной воды, которую также переносят в воронку, вносят 10 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают, затем добавляют 50 см^3 дихлорметана и интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия (толщиной около 1 см), помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3. Экстракцию вещества повторяют еще дважды порциями дихлорметана объемом 30 см^3, встряхивая в течение 2 мин.

Безводный сульфат натрия, помещенный на фильтре, дополнительно промывают 10 см^3 дихлорметана.

Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы дихлорметана в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества.

Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха и подвергают дополнительной очистке на колонке с оксидом алюминия по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Остаток, полученный по п. 9.2, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 0,5 см^3 этилацетата, вносят 2,5 см^3 гексана и помещают на ультразвуковую баню на 60 с. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.7.

Колбу обмывают дважды смесью гексан–этилацетат (85 : 15, по объему), приготовленной по п. 7.5.1, порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 кап./с.

Протиоконазол-дестио элюируют с колонки 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (6 : 4, по объему), приготовленной по п. 7.5.2, со скоростью 1—2 кап./с, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 0,5 $см^3$ (при анализе ГЖХ с термоионным детектором) или в 2 $см^3$ (при анализе ГЖХ с масс-спектрометрическим детектором) ацетона и анализируют содержание протиоконазола-дестио по п. 9.4.

Примечание. Объем элюата может быть изменен в соответствии с результатами проверки хроматографического поведения вещества на колонке по п. 7.8.

9.4. Условия хроматографирования

9.4.1. Газовый хроматограф, снабженный термоионным детектором (ТИД)

Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, содержащая сорбент: 50 % – фенилполисилоксан, 50 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента – 0,5 мкм).

Температура детектора: 320 °С,
испарителя: 270 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 150 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 230 °С, выдержка 2 мин, затем нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 270 °С.

Газ 1 (азот): давление 80 кПа, скорость 36,518 см/с, поток 1,778 $см^3$/мин.

Газ 2: деление потока 1 : 3; сброс 5,5 $см^3$/мин.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,2—2,0 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор протиоконазола-дестио с концентрацией 2,0 мкг/$см^3$, разбавляют ацетоном, не более чем в 50 раз.

9.4.2. Газовый хроматограф с масс-селективным детектором (метод подтверждения)

Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенилпо-

лисилоксан, 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: квадруполь – 150 °С, источник – 230 °С; переходной камеры – 280 °С.

Температура испарителя: 275 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 150 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 220 °С, выдержка 7 мин, нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 270 °С, выдержка 3 мин.

Газ 1 (гелий): поток в колонке 1,3 $см^3$/мин.

Давление: 17,261 *psi*.

Средняя линейная скорость: 48,385 см/с.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Режим регистрации индивидуальных ионов (SIM), m/z: 186 (количественный), 83,125.

Линейный диапазон детектирования: 0,05—0,5 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор протиоконазола-дестио с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$, разбавляют ацетоном, не более чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание протиоконазола-дестио в пробе (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V \cdot K}{m}, \text{ где}$$

X – содержание протиоконазола-дестио в пробе, мг/кг;

A – концентрация протиоконазола-дестио в растворе, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/$см^3$;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, $см^3$;

K – коэффициент, учитывающий объем аликвоты экстракта, $K = 2$;

m – масса образца, г.

При установлении уровня протиоконазола полученное значение содержания протиоконазола-дестио (X) умножают на 1,1.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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 протиоконазола-дестио в пробе менее 0,01 мг/кг**».

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения протиоконазола-дестио в картофеле.

13. Контроль качества результатов измерений

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

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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 протиоконазола-дестио в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,2 до 2,0 мкг/см^3 (метод ГЖХ с термоионным детектором), 0,05—0,5 мкг/см^3 (метод ГЖХ с масс-спектрометрическим детектором).

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

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

X – концентрация протиоконазола-дестио в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

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

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (равен 10 % при $P = 0,95$).

Если величина расхождения (А) превышает 10 %, 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 протиоконазола-дестио, предусмотренных МИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают 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 компонента 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, 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):

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

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

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

Определение остаточных количеств протиоконазола по его основному метаболиту протиоконазолу-дестио в картофеле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3496—17

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 07.11.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 150 экз. Заказ 56

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) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru