Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в продуктах яичных сухих пищевых, яйцах, мясе и субпродуктах птицы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3489/1—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 фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в продуктах яичных сухих пищевых, яйцах, мясе и субпродуктах птицы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3489/1—17

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в продуктах яичных сухих пищевых, яйцах, мясе и субпродуктах птицы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—23 с.

ISBN 978–5–7508–1630–9

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

2. Свидетельство об аттестации МИ № РОСС RU.0001.310430/0026.09.10.17.

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 5 октября 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978–5–7508–1630–9

© 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
5 октября 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в продуктах яичных сухих пищевых, яйцах, мясе и субпродуктах птицы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3489/1—17

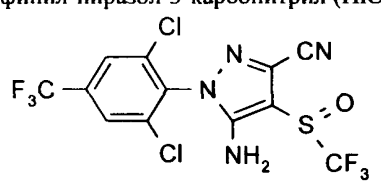
Область применения

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода газовой хроматографии с масс-селективным (МСД) и электронозахватным (ДЭЗ) детекторами для определения в продуктах яичных сухих пищевых, яйцах, мясе и субпродуктах птицы массовой концентрации фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в диапазонах 0,002—0,05 мг/кг (МСД) и 0,005—0,05 мг/кг (ДЭЗ).

Методические указания носят рекомендательный характер.

Фипронил

(±)-5-амино-1-(2,6-дихлор-α,α,α-трифтор-*n*-толил)-4-трифторметилсульфинил-пиразол-3-карбонитрил (ИЮПАК)



$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$
Молекулярная масса: 437,2.

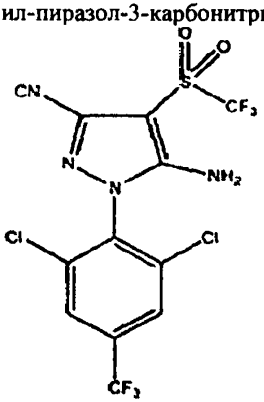
Фипронил представляет собой бесцветный кристаллический порошок с запахом плесени. Температура плавления: 203 °С. Давление паров: $3,7 \cdot 10^{-4}$ МПа (при 25 °С). Удельная плотность: 1,71 г/см^3. Коэффициент распределения в системе н-октанол/вода: $K_{ow}logP = 3,75$ (при pH 7 и 20 °С). Растворимость в воде (мг/дм^3, 20 °С): 3,78. Растворимость в органических растворителях (мг/дм^3, 20 °С): ацетон – 545 900; метанол – 137 500; толуол – 3 000; гексан – 28. Не устойчив к фотолизу: DT_{50} – 0,33 дня.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 92 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов – 354 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 0,36 мг/дм^3 воздуха.

Основным продуктом метаболитической деградации (окисление) фипронила в воде, растениях и почве является фипронил-сульфон.

Фипронил-сульфон (MB46136)

(±)-5-амино-1-(2,6-дихлор-α,α,α-трифтор-*п*-толил)-4-трифторметилсульфонил-пиразол-3-карбонитрил (ИЮПАК)



$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4O_2S$

Молекулярная масса: 453,2

Область применения. Фипронил – инсектицид широкого спектра действия – контактный и кишечный яд. Имеет умеренные системные свойства и высокую остаточную активность при обрабатывании листьев, может применяться для обработки и протравливания семян. Блокирует рецепторы насекомых и членистоногих, нарушает передачу нервных импульсов, что приводит к параличу и гибели паразитов.

1. Погрешность измерений

При соблюдении всех регламентируемых условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерения при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 и 2 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Значения характеристики погрешности, нормативов оперативного контроля точности, повторяемости, воспроизводимости (МСД)

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	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, полученных в разных лабораториях), R, %, ($P = 0,95$)
Фипронил						
Продукты яичные сухие пищевые	0,002–0,05	50	7,7	10,8	22	30
Яйца	0,002–0,05	50	7,1	9,9	20	28
Мясо и субпродукты птицы	0,002–0,05	50	6,1	8,5	17	24
Фипронил-сульфон						
Продукты яичные сухие пищевые	0,002–0,05	50	8,7	12,2	24	34
Яйца	0,002–0,05	50	6,5	9,1	18	26
Мясо и субпродукты птицы	0,002–0,05	50	7,9	11,0	22	31

Таблица 2

Значения характеристики погрешности, нормативов оперативного контроля точности, повторяемости, воспроизводимости (ДЭЗ)

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	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, полученных в разных лабораториях), R, %, ($P = 0,95$)
Фипронил						
Продукты яичные сухие пищевые	0,005–0,05	50	8,6	12,0	24	34
Яйца	0,005–0,05	50	7,2	10,1	20	28
Мясо и субпродукты птицы	0,005–0,05	50	6,4	9,0	18	25
Фипронил-сульфон						
Продукты яичные сухие пищевые	0,005–0,05	50	5,9	8,2	16	23
Яйца	0,005–0,05	50	5,0	6,9	14	19
Мясо и субпродукты птицы	0,005–0,05	50	7,7	10,8	22	30

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 3 (МСД) и 4 (ДЭЗ).

Таблица 3

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата (МСД)

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Фипронил					
Продукты яичные сухие пищевые	0,002	0,002—0,05	103,9	8,0	4,2
Яйца	0,002	0,002—0,05	87,7	8,2	4,3
Мясо и субпродукты птицы	0,002	0,002—0,05	91,7	10,4	5,4
Фипронил-сульфон					
Продукты яичные сухие пищевые	0,002	0,002—0,05	101,2	9,9	5,2
Яйца	0,002	0,002—0,05	86,6	9,3	4,8
Мясо и субпродукты птицы	0,002	0,002—0,05	95,8	13,0	6,8

Таблица 4

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата (ДЭЗ)

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
1	2	3	4	5	6
Фипронил					
Продукты яичные сухие пищевые	0,005	0,005—0,05	81,9	8,3	4,3
Яйца	0,005	0,005—0,05	89,6	6,0	3,2
Мясо и субпродукты птицы	0,005	0,005—0,05	90,4	5,9	3,1

Продолжение табл. 4

1	2	3	4	5	6
Фипронил-сульфон					
Продукты яичные сухие пищевые	0,005	0,005—0,05	82,4	6,4	3,4
Яйца	0,005	0,005—0,05	86,4	7,5	3,9
Мясо и субпродукты птицы	0,005	0,005—0,05	90,8	7,7	4,0

2. Метод измерений

Метод основан на определении фипронила и фипронил-сульфона с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с масс-селективным детектором (МСД) и детектором электронного захвата ионов (ДЭЗ).

Метод включает два способа пробоподготовки.

Согласно первому способу экстракцию веществ из анализируемых проб выполняют ацетонитрилом, содержащим 1% уксусной кислоты, с использованием смеси солей для экстракции (смесь сульфата магния и хлорида натрия), очистку экстрактов проводят методом дисперсионной твердофазной экстракции с применением смеси сорбентов на основе амина, октадецилсилана и графитизированной сажи.

По второму способу экстракцию веществ из анализируемых проб выполняют 30%-м ацетоном в ацетонитриле, пробы вымораживают, фильтруют и очищают аликвоту экстракта на колонке, содержащей силикагель и флорисил.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст. и с пределом допустимой погрешности (1 ± 2,5) мм рт. ст. ГОСТ Р 53228—08

Весы аналитические с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности 0,0001 г

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Газовый хроматограф, снабженный масс-селективным детектором с пределом детектирования по октафторнафталину 10^{-14} г, предназначенный для работы с капиллярными колонками	
Газовый хроматограф, снабженный электронозахватным детектором с пределом детектирования по линдану $1,6 \times \cdot 10^{-14}$ г/с, предназначенный для работы с капиллярными колонками	
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	
Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 50, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 10, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Фипронил, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,6 %	
Фипронил-сульфон, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 98,9 %	
Азот газообразный нулевой, в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Гелий газообразный вч, в баллонах	ТУ 0271-001-45905715—02
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий марганцовокислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76

Магний сернокислый (сульфат магния), безводный хч	ГОСТ 4523—77
Натрий сернокислый (сульфат) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый (хлорид натрия), хч	ГОСТ 4233—77
Сорбент для твердофазной экстракции на основе силикагеля с привитыми пропиламинными группами: $(CH_2)_3NH_2$ (SPA), площадь поверхности ~570 $м^2/г$, средний размер пор 67 А, средний размер частиц 60 мкм	
Сорбент для твердофазной экстракции на основе силикагеля с привитыми октадецильными группами $(CH_2)_{17}CH_3$ (*C18EC*), площадь поверхности ~547 $м^2/г$, средний размер пор 64 А, средний размер частиц 58 мкм	
Графитизированная сажа (GCB), специфическая площадь поверхности ~ 100 $м^2/г$, размер частиц 120/400 меш	
Силикагель 60, нейтральный, для колоночной хроматографии (размер частиц 63—200 меш)	
Уксусная кислота, ледяная, хч	ГОСТ 61—75
Флорисил, активный, для колоночной хроматографии (размер частиц 60—100 меш)	
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора), хч	ГОСТ 22300—76

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

3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства, материалы

Аппарат для встряхивания или орбитальный шейкер, диапазон регулировки оборотов 50—200 об./мин, орбита до 10 мм	
Баня водяная	
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Воронки химические стеклянные конусные	ГОСТ 25336—82
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Виала стеклянная на 1,5 $см^3$ с крышкой и фторопластовой прокладкой	
Груша резиновая	ТУ9398-005-0576-9082—03
Измельчитель бытовой	

Керамические гомогенизаторы для пробирок на 50 $см^3$	
Колба Бунзена	ГОСТ 23932—92
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 25, 50 и 150 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные конические вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колонка стеклянная длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Холодильник/морозильник бытовой	
Насос водоструйный	ГОСТ 25336—82
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками вместимостью 2 и 50 $см^3$	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	ГОСТ 25336—82
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающий вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком вместимостью 400 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Фильтры мембранные для фильтрации проб с помощью шприца, размер пор 0,22 мкм	
Фильтры бумажные средней плотности, обеззоленные	ТУ 2642-001-68085491—11
Центрифуга лабораторная, роторная, скорость вращения до 4 000 об./мин	
Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенил и 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм)	
Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 14 % – цианопропилфенил, 86 % – метилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм)	

Шприцы медицинские одноразовые вместимостью 5 $см^3$ ГОСТ 24861—91

Примечание. *Допускается применение другого 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 по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовые хроматографы.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—15. 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—90.

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 на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы методом капиллярной газожидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

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 газовых хроматографах проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, градуировочных растворов, раствора внесения, установление градуировочных характеристик, подготовка смеси солей и сорбентов, подготовка колонки, проверка поведения веществ на ней.

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 колонке с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм^3 ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм^3 ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.2. Приготовление раствора уксусной кислоты в ацетонитриле с объемной долей 1 % (1%-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 300—400 см^3 ацетонитрила, вносят 10 см^3 ледяной уксусной кислоты, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь перемешивают. Раствор хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.3. Приготовление раствора ацетона в ацетонитриле с объемной долей 30 % (30%-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 300—400 см^3 ацетонитрила, вносят 300 см^3 ацетона, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь перемешивают. Раствор хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.4. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.4.1. Исходный раствор фипронила для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,01 ± 0,0001) г фипронила, растворяют в 50—70 см^3 ацетона, доводят ацетоном до мет-

ки, тщательно перемешивают. Раствор хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

7.4.2. Исходный раствор фипронил-сульфона для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,01 ± 0,0001) г фипронил-сульфона, растворяют в 50—70 см^3 ацетона, доводят ацетоном до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

7.4.3. Рабочий раствор № 1 фипронила и фипронил-сульфона для градуировки и внесения (концентрация 1 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0 см^3 исходных градуировочных растворов фипронила и фипронил-сульфона с концентрациями 100,0 мкг/см^3 (п. 7.4.1 и 7.4.2), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 1 с концентрациями фипронила и фипронил-сульфона по 1,0 мкг/см^3.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения веществ методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом «добавок».

7.4.4. Серия № 1 (МСД). Рабочие растворы № 2–6 фипронила и фипронил-сульфона для градуировки (концентрации 0,002—0,05 мкг/см^3)

В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 1,0 мкг/см^3 (п. 7.4.3), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—6 с концентрацией фипронила и фипронил-сульфона 0,002; 0,005; 0,01; 0,02 и 0,05 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике (4 ± 2) °С в течение одной недели.

7.4.5. Серия № 2 (ДЭЗ). Рабочие растворы № 2′—6′ фипронила и фипронил-сульфона для градуировки (концентрации 0,005—0,05 мкг/см^3)

В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5; 1,0; 2,0; 2,5 и 5,0 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 1,0 мкг/см^3 (п. 7.4.3), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2′—6′ с концентрацией фипронила и фипронил-сульфона 0,005; 0,01; 0,02; 0,025 и 0,05 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение одной недели.

7.5. Приготовление смеси солей для экстракции

Для приготовления одного набора смеси солей для экстракции смешивают (4 ± 0,01) г магния сернокислого и (1 ± 0,01) г натрия хлористого, до использования хранят в герметичной упаковке (не более 6 месяцев).

Примечание. Возможно использование коммерческих наборов солей QuEChERS для экстракции проб фруктов и овощей массой 10 г.

7.6. Приготовление смеси сорбентов для очистки экстрактов

Для приготовления одного набора смеси сорбентов для очистки экстрактов в центрифужную полипропиленовую пробирку вместимостью 2 $см^3$ помещают (50 ± 4) мг сорбента для твердофазной экстракции на основе первичного-вторичного амина, (50 ± 4) мг графитизированной сажи, (150 ± 4) мг магния сернокислого и (50 ± 4) мг твердофазного сорбента на основе октадецилсилана, закрывают герметично крышкой, встряхивают для перемешивания, хранят не более 6 месяцев.

Примечание. Возможно использование коммерческих дисперсионных наборов QuEChERS для фруктов и овощей с маслом и пигментами, помещенных в полипропиленовые пробирки вместимостью 2 $см^3$.

7.7. Подготовка колонки для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, засыпают 2 г флорисила, 2 г силикагеля и 6 г безводного сульфата натрия, легко утрамбовывая каждый слой. Колонку промывают последовательно 25 $см^3$ ацетона и 25 $см^3$ ацетонитрила. Скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду. Не допускать высыхания верхнего слоя! Колонка готова к работе.

7.8. Проверка хроматографического поведения фипронила и фипронил-сульфона на колонке

В круглодонную колбу вместимостью 25 $см^3$ помещают 1,0 $см^3$ градуировочного раствора № 6′ с концентрацией фипронила и фипронил-сульфона 0,05 мкг/$см^3$ (п. 7.4.5), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35—40 °С. Остаток растворяют в 3,0 $см^3$ ацетонитрила, помещая на ультразвуковую баню на 30 с. Полученную пробу наносят на колонку, подготовленную по п. 7.8.

Колбу обмывают дважды ацетонитрилом, порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Элюат отбрасывают. Вещества элюируют 75 см^3 ацетонитрила, собирая 5 порций элюента по 15 см^3 в 5 круглодонных колб для упаривания вместимостью 50 см^3. Растворы упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона, анализируют содержание фипронила и фипронил-сульфона по п. 9.3.1 или 9.3.2.

Фракции, содержащие фипронил и фипронил-сульфон, объединяют и вновь анализируют. Устанавливают уровень веществ в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

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

7.9. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика от концентрации фипронила или фипронил-сульфона в растворе, устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 растворам для градуировки № 2—6 (серия 1) и № 2′—6′ (серия 2).

В инжектор газового хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.1 или п. 9.3.2. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков веществ, на основании которых строят градуировочные зависимости.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб осуществляют в соответствии с ГОСТ 30363—13 «Продукты яичные жидкие и сухие пищевые. Технические условия», ГОСТ 31654—12 «Яйца куриные пищевые. Технические условия», ГОСТ 31467—12 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям».

Пробы продуктов яичных сухих пищевых хранят при комнатной температуре не более 2 недель. Пробы яиц хранят при температуре (4 ± 2) °С не более недели, мяса и субпродуктов птиц – не более суток. Для длительного хранения пробы продуктов яичных сухих пищевых, яиц, мяса и субпродуктов птицы помещают в морозильную камеру (температура не выше –18 °С).

9. Выполнение определения

9.1. Способ 1

9.1.1 Экстракция

Образец продуктов яичных сухих пищевых, взбитых яиц, измельченного мяса или субпродуктов птицы массой 10 г помещают в центрифужную полипропиленовую пробирку вместимостью 50 $см^3$. Пробу взбитых яиц, измельченного мяса и субпродуктов птицы помещают на 10—15 мин в морозильную камеру. Добавляют 10 $см^3$ 1%-го раствора уксусной кислоты в ацетонитриле (подготовленного по п. 7.5). Далее в пробу меланжа вносят 10 $см^3$ бидистиллированной воды, в пробу порошка яичного белка пастеризованного – 15 $см^3$ бидистиллированной воды. Помещают в пробирку керамический гомогенизатор, закрывают крышку и интенсивно встряхивают вручную 1 мин, вносят в пробирку смесь солей для экстракции (приготовленную по п. 7.6), закрывают крышкой и снова интенсивно встряхивают (вручную) в течение 1 мин. Затем пробу помещают на 10—15 мин в морозильную камеру, центрифугируют в течение 5 мин при скорости вращения 4 000 об./мин и подвергают очистке с применением дисперсионной твердофазной экстракции по п. 9.1.2.

9.1.2. Очистка экстракта

Надосадочную жидкость (верхний слой в пробирке после центрифугирования) объемом 1,5—1,8 $см^3$ с помощью пипетки переносят в полипропиленовую центрифужную пробирку, содержащую смесь сорбентов, приготовленную по п. 7.6. Закрывают крышку и интенсивно встряхивают вручную в течение 30 с. Центрифугируют 5 мин при скорости вращения 4 000 об./мин и помещают в морозильник на 10—15 мин. Отбирают с помощью медицинского шприца раствор, фильтруют через мембранный фильтр (размер пор 0,22 мкм) в стеклянную виалу на 1,5 $см^3$ и анализируют по п. 9.3.1 или 9.3.2.

9.2. Способ 2

9.2.1. Экстракция

Пробу продуктов яичных сухих пищевых, взбитых яиц, измельченного мяса или субпродуктов птицы массой 25 г помещают в коническую плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ 30%-го раствора ацетона в ацетонитриле (подготовленного по п. 7.3). Вручную перемешивают в течение 1 мин, выдерживают на ультразвуковой бане в

течение 15 с и помещают на аппарат для встряхивания на 15 мин. Затем пробу помещают на 1 ч в морозильную камеру.

Раствор фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Осадок на фильтре промывают 30 $см^3$ 30%-го раствора ацетона в ацетонитриле.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерный цилиндр на 250 $см^3$. Общий объем экстракта доводят до 150 $см^3$ ацетонитрилом. Перемешивают и пипеткой вместимостью 10 $см^3$ отбирают аликвоту объемом 6 $см^3$ (1/25 часть экстракта, соответствует 1 г пробы) для очистки на колонке по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта на колонке с сорбентами

Аликвоту экстракта объемом 6 $см^3$ (полученную по п. 9.2.1) наносят на колонку, подготовленную по п. 7.7. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду.

Фипронил и фипронил-сульфон элюируют с колонки 75 $см^3$ ацетонитрила (элюент), собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$, раствор упаривают до объема приблизительно 5 $см^3$ при температуре не выше 35 °С, переносят раствор в круглодонную колбу на 25 $см^3$, омывая колбу на 150 $см^3$ три раза ацетонитрилом порциями по 2—3 $см^3$ и упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 1,0 $см^3$ ацетона, помещают на ультразвуковую баню на 30 с и анализируют содержание веществ по п. 9.3.1 или 9.3.2.

Примечание. Объем элюента может быть изменен в соответствии с результатами проверки хроматографического поведения веществ на колонке по п. 7.7.

9.3. Условия хроматографирования

9.3.1. Метод газожидкостной хроматографии с масс-селективным детектором (МСД)

Газовый хроматограф, снабженный масс-селективным детектором (МСД)

Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенил, 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: квадруполя – 150 °С, источника – 230 °С, переходной камеры – 280 °С.

Температура испарителя: 270 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 100 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 15

градусов в минуту до температуры 220 °С, выдержка 5 мин, затем нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 270 °С, выдержка 3 мин.

Газ 1 (гелий): поток в колонке 1,2 $см^3$/мин,

давление 12,93 *psi*, средняя линейная скорость 40,853 см/с.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Режим регистрации индивидуальных ионов

Отношение масса-заряд: **фипронил** – 367 (количественный расчет), 255, 213

фипронил-сульфон – 383 (количественный расчет), 255, 452

Линейный диапазон детектирования: 0,002—0,05 нг.

Ориентировочное время удерживания: фипронила – 11,35 мин, фипронил-сульфона – 13,12 мин.

9.3.2. Метод газожидкостной хроматографии электронозахватным детектором (ДЭЗ)

Газовый хроматограф, снабженный электронозахватным детектором (ДЭЗ)

Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 14 % – цианопропилфенил, 86 % – метилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура: детектора – 280 °С,

Испарителя – 260 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 180 °С, выдержка 3 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 250 °С, выдержка 6 мин, затем нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 270 С.

Газ 1 (азот): давление 100 кПа, скорость 29 см/с.

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

Хроматографируемый объем: 2 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,01—0,1 нг.

Ориентировочное время удерживания: фипронила – 10,59 мин, фипронил-сульфона – 12,31 мин.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор фипронила или фипронил-сульфона с концентрацией 0,05 мкг/$см^3$, разбавляют ацетоном, не более чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание фипронила с учетом его метаболита фипронил-сульфона (в эквиваленте фипронила) в пробе (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A + Б \cdot K) \cdot V \cdot C}{m}, \text{ где}$$

A – концентрация фипронила, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

$Б$ – концентрация фипронил-сульфона, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3; V = 10 см^3 (способ 1) и V = 1,0 см^3 (способ 2);

m – масса анализируемого образца, г;

C – коэффициент пересчета, учитывающий объем аликвоты экстракта, взятой для анализа, C = 1 (способ 1), C = 25 (способ 2);

K – коэффициент пересчета содержания фипронил-сульфона на эквивалент фипронила по соотношению молекулярных масс (K = 0,96).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1, 2), 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:

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

$\overline{X}$ – 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, 2), %.

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

*«содержание фипронила и фипронил-сульфона в пробе продуктов яичных сухих пищевых, яиц, мяса и субпродуктов птицы: менее 0,002 мг/кг (метод газожидкостной хроматографии с масс-селективным детектором (МСД); менее 0,005 мг/кг (метод газожидкостной хроматографии с электронозахватным детектором (ДЭЗ)**

** 0,002 мг/кг; 0,005 мг/кг – нижние пределы количественного определения в пробе продуктов яичных сухих пищевых, яиц, мяса и субпродуктов птицы с применением МСД и ДЭЗ соответственно.*

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 градуировочных характеристик проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочных характеристик проводят измерения не менее двух градуировочных растворов, содержание фипронила и фипронил-сульфона в которых должно входить в диапазон линейности градуировочной характеристики от 0,002 до 0,05 мкг/см^3 (МСД) и от 0,005 до 0,05 мкг/см^3 (ДЭЗ).

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

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

X – концентрация фипронила или фипронил-сульфона в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора фипронила или фипронил-сульфона, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

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

Если величина расхождения (A) 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 фипронила и фипронил-сульфона, предусмотренных МИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.9.

13.2. 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/кг, при этом:

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

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, 2), %.

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:

$$|K_к| \leq K, \quad (1)$$

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.

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):

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

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, 2), %.

Определение остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в продуктах яичных сухих пищевых, яйцах, мясе и субпродуктах птицы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3489/1—17

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

Подписано в печать 30.05.18

Формат 60x90/16 Печ. л. 1,5
Тираж 100 экз. Заказ 31

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru