Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в зерне, соломе и зеленой массе риса, корнеплодах и ботве сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3447—17

Издание официальное

Москва • 2017

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 метаболиту протиоконазол-дестио в зерне, соломе и зеленой массе риса, корнеплодах и ботве сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3447—17

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в зерне, соломе и зеленой массе риса, корнеплодах и ботве сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—20 с.

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский НИИ фитопатологии» (Л. В. Дубовая, А. М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 декабря 2016 г. № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 14 марта 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

© Роспотребнадзор, 2017

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в зерне, соломе и зеленой массе риса, корнеплодах и ботве сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3447—17

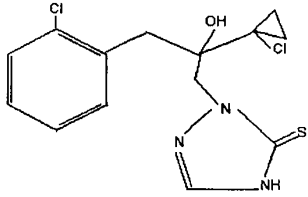
Свидетельство о метрологической аттестации № РОСС RU.001. 310430/260 23.06.16.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в зерне риса в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в зеленой массе риса, ботве и корнеплодах сахарной свеклы в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг, в соломе риса в диапазоне 0,1—1,0 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Протиоконазол

2-[(2RS)-2-(1-хлорциклопропил)-3-(2-хлорфенил)-2-оксипропил]-2Н-1,2,4-триазол-3(4Н)-тион



$C_{14}H_{15}Cl_2N_3OS$

Молекулярная масса: 344,3.

Бесцветное или светло-бежевое твердое вещество без запаха. Температура плавления: 139,1—144,5 °С. Давление паров при 20 °С: << 4 × 10^{-7} Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 4,16 (pH 4); 3,82 (pH 7) и 2,0 (pH 9). Растворимость (г/$дм^3$) при 20 °С: ацетон > 250, этилацетат > 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 ($DT_{50} \geq 1$ года) средах.

В присутствии света в водных фотолитических условиях протиоконазол достаточно быстро деградирует с периодом полураспада 47,7 ч.

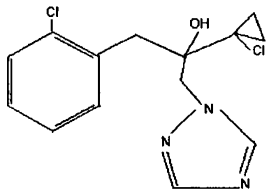
Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 6 200 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс > 4 990 мг/$м^3$ воздуха.

Протиоконазол не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз, не обладает эмбриотоксическим или тератогенным действием. LC_{50} для рыб – 1,83 мг/$дм^3$ (96 ч).

Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел, дождевых червей, дафний и почвенных микроорганизмов.

Оновной метаболит протиоконазола: протиоконазол-дестио (SXX 0665)

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



$C_{14}H_{15}Cl_2N_3O$

Молекулярная масса: 312,2.

Бесцветный порошок без запаха. Температура плавления: 108,5 °С. Давление паров при 20 °С: 2,7 × 10^{-7} Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 3,04. Растворимость (г/$дм^3$) при 20 °С: гексан – 3, толуол – 84, ацетон – 100, ацетонитрил – 43, дихлорметан – более 200, вода – 0,051.

Метаболит стабилен в кислой и щелочной средах (DT_{50} = > 500 ч).

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

Применяется в России в качестве фунгицида системного действия в составе смесевых препаратов для протравливания зерна колосовых культур и обработки вегетирующих растений зерновых злаков и рапса с нормой расхода 37—50 г д.в./т семян или 80—100 г д.в./га.

Протиоконазол весьма лабильное вещество и при поступлении в растение очень быстро метаболизируется до более устойчивого соединения – протиоконазол-дестио (α-(1-хлорциклопропил)-α-(2-хлорфенил)метил-1Н-1,2,4-триазол-1-этанол). В связи с этим разработан метод, позволяющий осуществлять контроль за содержанием остаточных количеств протиоконазола в зерне, соломе и зеленой массе риса, ботве и корнеплодах свеклы по протиоконазол-дестио.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении 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, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры

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, % ($P = 0,95$)
Зеленая масса риса	0,05—0,5	50	2,7	3.8	7,6	10,6
Зерно риса	0.02—0,2	50	2.2	3,1	6.2	8.7
Солома риса	0.1—1,0	50	3.2	4,5	9,0	12.6
Ботва свеклы	0,05—0,5	50	2.5	3,5	7,0	9,8
Корнеплоды свеклы	0.05—0.5	50	3,0	4.2	8,4	11,8

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0.95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	средняя полнота извлечения, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Зеленая масса риса	0,05	0,05—0,5	86.8	3,17	± 1,65
Зерно риса	0,02	0,02—0,2	87.6	2,38	± 1,26
Солома риса	0.10	0,10—1,0	85.9	3.71	± 1.96
Ботва свеклы	0.05	0.05—0,5	87,9	2,62	± 1.39
Корнеплоды свеклы	0.05	0.05—0,5	88,2	3.36	± 1.78

2. Метод измерений

Методика основана на определении протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) после извлечения метаболита из анализируемых матриц водным раствором ацетона, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с оксидом алюминия.

Количественное определение метаболита проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с термоионным детектором

Весы аналитические с пределом взвешивания до 110 г и допустимой погрешностью 0,0001 г — ГОСТ Р 53228—08

Весы лабораторные с пределом взвешивания до 160 г и допустимой погрешностью 0,005 г — ГОСТ Р 53228—08

Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-500-2, 2-1000-2 — ГОСТ 1770—74

Пипетки градуированные 1-1-2-1; 1-1-2-2; 1-2-2-5; 1-2-2-10 — ГОСТ 29227—91

Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 1-25; 1-50; 1-100; 1-250; 1-500; 1-1000	ГОСТ 1770—74
Микрошприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1-10 $см^3$	ТУ 64-1-2850

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

3.2. Реактивы

Протиоконазол-дестио, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 98,5 %	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—05
Гелий газообразный, очищенный (или азот)	ТУ-0271-135-31323949—05
н-Гексан, хч	ТУ 2631-003-05807999—98
Калий марганцовокислый, хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид кальция), хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Натрий сернокислый безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 1138—84

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

3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства и материалы

Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Генератор водорода	
Гомогенизатор с металлическим стаканом вместимостью не менее 500 $см^3$ и скоростью вращения ножа не менее 10 000 об./мин	
Компрессор	

Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Колба Бунзена вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 50, 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с нанесенной пленкой из смеси: 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм	
Колонка хроматографическая стеклянная длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236—79
Оксид алюминия нейтральный для колоночной хроматографии с размером частиц 0,063—0,200 мм	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641—75)
Фильтры бумажные средней плотности	ТУ 6-09-1678—86

Примечание. Допускается использование вспомогательных средств измерений, 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 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—91 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 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации оператора

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, раствора внесения, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей, подготовка колонки с оксидом алюминия, проверка хроматографического поведения протиоконазол-дестио на колонке.

7.1. Очистка органических растворителей и приготовление растворов

7.1.1. Ацетон. Ацетон перегоняют над калием марганцовокислым и прокаленным калием углекислым (на 1 дм^3 ацетона 10 г калия марганцевокислого и 2 г калия углекислого). Срок хранения – 1 неделя.

7.1.2. н-Гексан. Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания последней в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

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

Хлористый метилен и этилацетат промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют. Растворители хранят в темной посуде при комнатной температуре не более 14 дней.

7.2. Кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 290 °С и скорости газа-носителя 2 $см^3$/мин в течение 8—10 ч.

7.3. Приготовление градуировочных растворов

7.3.1. Исходный градуировочный раствор протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,0102 г протиоконазол-дестио (содержание основного компонента 98,5 %), растворяют в 40—50 $см^3$ этилацетата, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –12 °С не более 3 месяцев.

7.3.2. Градуировочный раствор протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (раствор № 1). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора протиоконазол-дестио с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.3.1), разбавляют этилацетатом до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5.

Для приготовления проб зерна, зеленой массы, соломы, ботвы и корнеплодов с внесением при оценке полноты извлечения протиоконазол-дестио методом «внесено-найдено» и контроле точности методом добавок используют ацетоновый раствор протиоконазол-дестио с концентрацией 1 мкг/$см^3$.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор протиоконазол-дестио хранят в морозильной камере при температуре не выше –12 °С не более месяца.

7.3.3. Градуировочные растворы протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 0,1—1,0 мкг/см^3 (растворы № 2—5). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.3.2), доводят до метки смесью гексан-этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией протиоконазол-дестио 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см^3 соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.4. Установление градуировочной характеристики

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

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 7.3.3) и анализируют при условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

7.5. Приготовление смесей гексан–этилацетат для очистки экстрактов на колонке с оксидом алюминия

7.5.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 85 : 15). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 75 см^3 этилацетата, доводят до метки гексаном, перемешивают. Срок хранения раствора – 1 неделя.

7.5.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 7 : 3). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 150 см^3 этилацетата, доводят до метки гексаном, перемешивают. Срок хранения раствора – 1 неделя.

7.6. Подготовка колонки с оксидом алюминия для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г оксида алюминия нейтрального III степени активности в 15 см^3 гексана (оксид алюминия III степени активности по Брокману получают добавлением 6 % воды к навеске оксида алюминия I степени активности). Дают рас-

творителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 $см^3$ гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

7.7. Проверка хроматографического поведения протиоконазол-дестио на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,2 $см^3$ градуировочного раствора протиоконазол-дестио с концентрацией 10 мкг/$см^3$ в этилацетате (п. 7.3.2). Растворитель упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С, остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 85 : 15, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 20 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему), отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают досуха, остатки растворяют в 1 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание протиоконазол-дестио по п. 9.4.

По результатам обнаружения протиоконазол-дестио в каждой из фракций определяют объем смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему), необходимый для полного вымывания вещества из колонки.

Примечание. Профиль вымывания протиоконазол-дестио может меняться при использовании новых партий сорбента и растворителей.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ Р 50436—92 «Зерновые. Отбор проб зерна», ГОСТ 6293—90 «Рис. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ Р 55289—12 «Рис. Технические условия», ГОСТ 52647—06 «Свекла сахарная. Технические условия» и «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Пробы зеленой массы риса, ботвы и корнеплодов сахарной свеклы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более

одного дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С до анализа. Пробы зерна и соломы высушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу. Перед проведением анализа зерно размалывают, а зеленую массу, ботву, корнеплоды и солому измельчают.

9. Проведение определения

9.1. Экстракция протиоконазол-дестио

Приготовление водного раствора ацетона с объемной долей 80 %

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 100 см^3 деионизованной воды и доводят объем раствора в колбе до метки ацетоном, перемешивают. Срок хранения раствора – 1 неделя.

9.1.1. Зеленая масса, ботва, корнеплоды. Образец измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 % и гомогенизируют 3 минуты при 10 000 об./мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 %. Экстракт и промывную жидкость переносят в мерный цилиндр с пришлифованной пробкой вместимостью 250 см^3, доводят общий объем раствора до 200 см^3 ацетоном, перемешивают. Аликвоту раствора объемом 50 см^3, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.2. Зерно, солома. Образец размолотого зерна (10 г) или измельченной соломы (5 г) помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 % и помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре возвращают в колбу и повторяют экстракцию дополнительной порцией этого же растворителя объемом 30 см^3, выдерживая на встряхивателе 20 мин. Осадок на фильтре промывают 20 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 %. Экстракты и промывную жидкость переносят в мерный цилиндр с пришлифованной пробкой вместимостью 100 см^3, доводят общий объем раствора до 100 см^3 ацетоном, перемешивают и аликвоту раствора объемом 50 см^3 (эквивалентную 5 г зерна или 2,5 г соломы) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Приготовление насыщенного раствора хлорида натрия

В коническую колбу вместимостью 200 $см^3$ вносят навеску (50 ± 2) г хлорида натрия, приливают 100 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают в течение 5 мин, полученный раствор фильтруют. Фильтрат является насыщенным раствором хлорида натрия. Срок годности раствора – 1 неделя.

Отобранные экстракты растительных образцов, полученные по п. 9.1.1 и 9.1.2 и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водного остатка (7—10 $см^3$). Водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. Колбу ополаскивают 10 $см^3$ деионизованной воды, которую также помещают в делительную воронку. В воронку вносят 15 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия, затем приливают 30 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С и остаток подвергают дополнительной очистке на колонке с оксидом алюминия по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2, растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 85 : 15, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 25 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Протиоконазол-дестио элюируют с колонки 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Остаток экстракта зерна растворяют в 1 $см^3$, зеленой массы, ботвы, корнеплодов и соломы – в 2,5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, помещая в ультразвуковую ванну на

1 мин, и растворы анализируют на содержание протиоконазол-дестио по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с термоионным детектором, снабженный приспособлениями для капиллярной колонки.

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

Температура: детектора – 295 °С;
испарителя – 275 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 175 °С, выдержка 2 мин; нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 260 °С, выдержка – 0 мин; нагрев колонки со скоростью 5 градусов в минуту до температуры 270 °С, выдержка 3 мин; нагрев со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 280 °С, выдержка – 10 мин.

Расход газов: газа-носителя (гелий) – 2,0 $см^3$/мин;
водорода – 4,6 $см^3$/мин;
воздуха – 175 $см^3$/мин;
поток поддува – 28 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,10—1,0 нг.

Образцы, дающие пики большие чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2.

10. Обработка результатов анализа

Содержание протиоконазол-дестио в пробе (X, мг/кг) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

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

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

m – масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с оксидом алюминия и последующего хроматографического определения, г.

При расчете содержания протиоконазол-дестио в эквивалентах протиоконазола полученное значение 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:

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

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 (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 протиоконазол-дестио в пробах зерна риса менее 0,02 мг/кг*»*;

«*содержание протиоконазол-дестио в пробах зеленой массы риса, ботвы и корнеплодов сахарной свеклы менее 0,05 мг/кг*»**;

«*содержание протиоконазол-дестио в пробах соломы риса менее 0,1 мг/кг*».***

* 0,02 мг/кг – предел обнаружения;

** 0,05 мг/кг – предел обнаружения;

*** 0,1 мг/кг – предел обнаружения.

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 проводят в начале и по окончании каждой серии опытов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание протиоконазол-дестио в которых должно охватывать весь диапазон от 0,1 до 1,0 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq B \text{, где} \qquad (2)$$

X – содержание протиоконазол-дестио в пробе при контрольном измерении, мкг;

C – известное содержание протиоконазол-дестио в градуировочном растворе, взятом для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг;

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (равен 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 протиоконазол-дестио, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.4.

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода 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.

Допустимо характеристику погрешности результатов анализа при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражения $\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$ с последующим уточнением по мере накопления информации:

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

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), %.

Контроль проводят путем сравнения результата контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля K.

Результат контрольной 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 контрольной процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (3)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (3) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (3) 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):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2|}{X_1 + X_2} \cdot 100 \leq R \text{ , где} \qquad (4)$$

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 метаболиту протиоконазол-дестио в зерне, соломе и зеленой массе риса, корнеплодах и ботве сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3447—17

Ответственный за выпуск Н. В. Карташева

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

Подписано в печать 09.10.17

Формат 60x84/16 Печ. л. 1,25

Тираж 125 экз. Заказ

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