**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств тиаклоприда в корнеплодах моркови, в ботве и корнеплодах столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3416—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 тиаклоприда в корнеплодах моркови, в ботве и корнеплодах столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3416—17**

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств тиаклоприда в корнеплодах моркови, в ботве и корнеплодах столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—22 с.

ISBN 978—5—7508—1573—9

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

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 февраля 2017 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.23**

ISBN 978—5—7508—1573—9

**© 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 февраля 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств тиаклоприда в корнеплодах моркови, в ботве и корнеплодах столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.3416—17

Свидетельство о метрологической аттестации МВИ № РОСС RU. 0001.310430/0256.31.03.2016 от 31.03.2016.

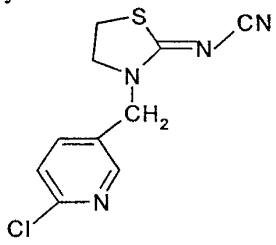
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств тиаклоприда в корнеплодах моркови в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в ботве столовой свеклы в диапазоне 0,1—1,0 мг/кг; в корнеплодах столовой свеклы в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

**Тиаклоприд**

(Z)-3-(6-хлор-3-пиридилметил)-1,3-тиазолидин-2-илиденцианамид.

Структурная формула:



Молекулярная масса: 252,7.

Эмпирическая формула: $C_{10}H_9ClN_4S$.

Цвет, запах: кристаллическое вещество желтоватого цвета без запаха.

Температура плавления: 136 °С.

Давление паров: $3,0 \times 10^{-7}$ МПа (при 20 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: $K_{ow}logP = 1,26$ (при 22 °С).

Растворимость в воде: 185 мг/дм$^3$ (при 20 °С).

Растворимость в органических растворителях (г/дм$^3$, при 20 °С): ацетон – 64, ацетонитрил – более 52, дихлорметан – 160, n-гексан – менее 0,1, диметилсульфоксид – 150.

Вещество устойчиво к гидролизу при pH от 5 до 9 (при 25 °С) и относительно стабильно на свету – $ДТ_{50}$ составляет более 100 дней.

Тиаклоприд относительно слабо передвигается по почвенному профилю и достаточно быстро разрушается в почве в аэробных условиях ($ДТ_{50}$ = 7—21 день).

*Краткая токсикологическая характеристика.* Тиаклоприд относится к умеренно опасным по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс 396—836 мг/кг), к мало опасным по дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг), к опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 часа) от 1 223 до 2 535 мг/м$^3$). Не вызывает раздражения слизистых оболочек глаз и кожи у кроликов. Тиаклоприд практически нетоксичен для пчел, птиц, дождевых червей и водорослей.

*Область применения.* Тиаклоприд – инсектицид нервно-паралитического действия, эффективно уничтожает тлю, цветоеда, минеров, трипсов, плодожорку, колорадского жука на хлопчатнике, табаке, картофеле, рисе, овощных культурах, цитрусовых, косточковых и семечковых плодовых в течение вегетационного периода. Применяется в России в качестве инсектицида для обработки яблоневых садов при норме расхода до 200 г д.в./га и одно- и двукратной обработке за сезон.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,01 мг/кг массы человека; ПДК в воде водоемов – 0,004 мг/дм$^3$; ОДК в почве – 0,07 мг/кг; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,4 мг/м$^3$; в атмосферном воздухе – 0,002 мг/м$^3$; МДУ в продукции (мг/кг): виноград, картофель – 0,02; плодовые (семечковые) – 0,7; рапс (семена) – 0,5; рапс (масло) – 0,3.

МДУ тиаклоприда (в импортируемой продукции, мг/кг): сахарная свекла – 0,02; свекла – 0,05; морковь – 0,05.

## 1. Погрешность измерений

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

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

Таблица 1

**Метрологические параметры для тиаклоприда**

| Анализируемый объект | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности), ± δ, % $P = 0,95$ | Стандартное отклонение повторяемости, $\sigma_r$, % | Предел повторяемости, $r$, % | Предел воспроизводимости, $R$, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Корнеплоды моркови | 0,02—0,1 вкл. | 50 | 3 | 8 | 12 |
| | 0,1—0,2 вкл. | 25 | 4 | 11 | 16 |
| Ботва столовой свеклы | 0,1—1,0 вкл. | 25 | 3 | 8 | 11 |
| Корнеплоды столовой свеклы | 0,01—0,1 вкл. | 50 | 3 | 9 | 13 |

Таблица 2

**Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для тиаклоприда**

| Анализируемый объект | Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | предел обнаружения, мг/кг | диапазон определяемых концентраций, мг/кг | полнота извлечения вещества, % | стандартное отклонение, S, % | доверительный интервал среднего результата, ±, % |
| Корнеплоды моркови | 0,02 | 0,02—0,2 | 81,37 | 4,31 | 1,64 |
| Ботва столовой свеклы | 0,1 | 0,1—1,0 | 83,12 | 3,26 | 1,27 |
| Корнеплоды столовой свеклы | 0,01 | 0,01—0,1 | 83,51 | 2,87 | 1,12 |

## 2. Метод измерений

Метод основан на определении тиаклоприда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами, на колонках с окисью алюминия и на концентрирующих патронах № 1.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

## 3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

### *3.1. Средства измерений*

| | |
|---|---|
| Весы аналитические класса точности специальный (I) с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г | ГОСТ Р 53228—08 |
| Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 400 г и пределом допустимой погрешности ± 0,5 г | ГОСТ Р 53228—08 |
| Колбы мерные на 10, 50, 100 и 1 000 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |
| Микрошприц объемом 100 $мм^3$ со шкалой деления 0,001 $см^3$ и погрешностью менее 1 % от номинального объема | |
| Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$ | ГОСТ 29227—91 |
| Хроматографическая система, включающая:<br>– хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,010 единиц адсорбции на шкалу;<br>– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку | |

| | |
|---|---|
| результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ | |
| Цилиндры мерные на 10, 25, 50, 100 и 500 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |

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

### *3.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Тиаклоприд, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,0 % | CAS 111988-49-9 |
| Алюминий окись для хроматографии, ч | ТУ 6-09-3916—75 |
| Ацетон, осч | ТУ 6-09-3513—86 |
| Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм | ТУ 6-09-2167—84 |
| Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости) | ГОСТ 6709—72 |
| Гелий, очищенный | ТУ-51-940—80 |
| n-Гексан, хч | ТУ 6-09-3818—89 |
| Калий марганцовокислый, чда | ГОСТ 20490—75 |
| Кальций хлористый, ч | ТУ 6-09-4711—81 |
| Кислота уксусная, ледяная | ГОСТ 61—75 |
| Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с гидрофильным слабокислым сорбентом с постоянной активностью с размером частиц 63—200 мкм (С) (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 1) | ТУ 4215-002-05451931—94 |
| Метилен хлористый, хч | ТУ 6-09-2662—77 |
| Натрий сернокислый, безводный, хч | ГОСТ 4166—76 |
| Натрий углекислый, кислый, хч | ГОСТ 4201—79 |
| Натрий хлористый, хч | ГОСТ 4233—77 |

**Примечание.** Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *3.3. Вспомогательные устройства и материалы*

| | |
|---|---|
| Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами | ГОСТ 25336—82 |
| Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту | |

| | |
|---|---|
| Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$ | |
| Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$ | |
| Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная | ГОСТ 5556—81 |
| Воронки делительные на 250 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Воронки лабораторные, стеклянные | ГОСТ 25336—82 |
| Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С | |
| Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$ ТС | ТУ 92-891.029—91 |
| Колонка хроматографическая стальная длиной 150 мм, с внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18 | |
| Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс., с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин | |
| Предколонка хроматографическая стальная, длиной 12,5 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С8 | |
| Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—500 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$ | |

| | |
|---|---|
| Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г | ТУ-6-09-1678—86 |
| Шприц инъекционный многократного применения объемом 10 $см^3$ | ГОСТ 22967—90 |

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

## 4. Требования безопасности

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

*4.2.* Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТу 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТу 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТу 12.0.004—91.

## 5. Требования к квалификации операторов

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

## 6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

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

## 7. Подготовка к выполнению определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов,

кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов № 1 и колонки с окисью алюминия для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах № 1 и колонке с окисью алюминия, установление градуировочной характеристики.

### *7.1. Подготовка органических растворителей*

#### *7.1.1. Очистка ацетонитрила*

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

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

#### *7.1.2. Очистка ацетона*

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

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

#### *7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды*

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см$^3$ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм$^3$ и кипятят в течение 6 часов.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0°С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

#### *7.1.4. Очистка хлористого метилена*

Хлористый метилен промывают равным объемом 5%-го раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм$^3$. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 часов. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см$^3$ аппарата для перегонки растворителей. Хлористый метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

*7.1.5. Очистка гексана*

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

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

***7.2. Приготовление растворов для проведения анализа***

*7.2.1. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ*

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил, бидистиллированную воду и ледяную уксусную кислоту.

В плоскодонную колбу объемом 1 000 см$^3$ помещают 350 см$^3$ ацетонитрила, 600 см$^3$ бидистиллированной воды и 1 см$^3$ уксусной кислоты. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см$^3$/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту.

*7.2.2. Приготовление градуировочных растворов*

*7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией тиаклоприда 1,0 мг/см$^3$.* Взвешивают 50 мг тиаклоприда в мерной колбе объемом 50 см$^3$. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

*7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией тиаклоприда 10,0 мкг/см$^3$.* Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 100 см$^3$ и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 2 используется для внесения в контрольные образцы и для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике не более 30 суток.

*7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией тиаклоприда 1,0 мкг/см$^3$.* Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 5 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 50 см$^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1. Стандартный раствор № 3 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 30 суток.

*7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией тиаклоприда 0,5 мкг/см$^3$.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 см$^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1. Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 30 суток.

*7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией тиаклоприда 0,2 мкг/см$^3$.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 см$^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1. Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 30 суток.

*7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией тиаклоприда 0,1 мкг/см$^3$.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 см$^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1. Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 30 суток.

*7.2.2.7. Стандартные растворы с концентрацией тиаклоприда 5,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,4 и 0,2 мкг/см$^3$ для внесения в контрольные образцы.* Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 5,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,4 и 0,2 мкг/см$^3$ и используют эти растворы с целью внесения в контрольные образцы. Стандартные растворы для внесения в контрольные образцы хранятся в холодильнике не более 30 суток.

### *7.3. Установление градуировочной характеристики*

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации тиаклоприда в растворе (мкг/см$^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см$^3$.

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм$^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

### *7.4. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения тиаклоприда на ней*

*7.4.1. Проверка хроматографического поведения тиаклоприда на колонке с окисью алюминия*

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 3 г окиси алюминия с зернением 40/250 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 $см^3$ ацетонитрила.

*7.4.2. Проверка хроматографического поведения тиаклоприда на колонке с окисью алюминия*

В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора тиаклоприда в ацетонитриле с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 10 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу обмывают еще двумя порциями ацетонитрила объемом 10 $см^3$ каждая и последовательно вносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие тиаклоприд, полноту смывания с колонки и необходимый объем элюата.

Изучение поведения тиаклоприда на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии окиси алюминия.

### *7.5. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения тиаклоприда на них*

*7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта*

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин (1—2 кап./с).

Патрон № 1 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, затем 10 $см^3$ гексана. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

*7.5.2. Проверка хроматографического поведения тиаклоприда на концентрирующих патронах № 1*

Из стандартного раствора тиаклоприда в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 $см^3$ гексана, перемешивают и вносят на подготовленный патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Исходный концентратор обмывают последовательно 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 9 : 1, 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1 и двумя порциями по 10 $см^3$ каждая смеси гексана с ацетоном в соотношении 7 : 3. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие тиаклоприд, полноту смывания с патрона и необходимый объем элюата.

Изучение поведения тиаклоприда на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

### *7.7. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии*

Хроматографическую колонку с предколонкой устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1,0 $см^3$/мин 3—4 часа.

## 8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТом 32284—13 «Морковь столовая свежая, реализуемая в розничной торговой сети. ТУ», ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма для животных. Отбор проб», ГОСТом 1722—85 «Свекла столовая свежая, заготовляемая и поставляемая. Технические условия».

Пробы ботвы столовой свеклы, а также корнеплодов столовой свеклы и моркови хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С.

## 9. Выполнение определения

### *9.1. Ботва столовой свеклы*

#### *9.1.1. Экстракция*

Образец измельченной ботвы столовой свеклы массой 5 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см$^3$, прибавляют 50 см$^3$ ацетонитрила и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 см$^3$ через фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 см$^3$ ацетонитрила и помещая на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 см$^3$ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

#### *9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей*

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, прибавляют 5 см$^3$ ацетонитрила, обмывают стенки концентратора, затем прибавляют 100 см$^3$ дистиллированной воды, 5 г хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 см$^3$. Тиаклоприд экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 см$^3$, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают в концентратор объемом 250 см$^3$ через слой

безводного сульфата натрия и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

*9.1.3. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия*

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 10 см$^3$ ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора, наносят на подготовленную колонку, элюат собирают в концентратор. Исходную колбу обмывают 10 см$^3$ ацетонитрила и вносят на колонку. Элюаты объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

*9.1.4. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1*

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.3, растворяют в 1 см$^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см$^3$ гексана, перемешивают и вносят на подготовленный патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают последовательно 10 см$^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 9 : 1 и 10 см$^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, элюаты также отбрасывают.

Тиаклоприд элюируют с патрона № 1 10 см$^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 7 : 3, элюат собирают в концентратор объемом 100 см$^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 5 см$^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1 и 20 мм$^3$ пробы вводят в хроматограф.

***9.2. Корнеплоды столовой свеклы***

*9.2.1. Экстракция*

Образец измельченных корнеплодов столовой свеклы массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см$^3$, прибавляют 50 см$^3$ ацетонитрила и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 см$^3$ через фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 см$^3$ ацетонитрила и помещая на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 см$^3$ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей» и п. 9.1.3 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия».

После очистки элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой 1 : 1 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

### *9.3. Корнеплоды моркови*

#### *9.3.1. Экстракция*

Образец измельченных корнеплодов моркови массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$ через фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 $см^3$ ацетонитрила и помещая на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей», п. 9.1.3 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия и п. 9.1.4 «Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1».

После очистки элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой 1 : 1 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

### *9.4. Условия хроматографирования*

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,010 единиц адсорбции на шкалу;

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

Колонка хроматографическая стальная длиной 250 мм с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Предколонка хроматографическая стальная длиной 20 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода–уксусная кислота в соотношении 350 : 600 : 1.

Скорость потока подвижной фазы – 1,0 $см^3$/мин.

Длина волны: 244 нм.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор тиаклоприда с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, соответственно разбавляют.

## 10. Обработка результатов

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

*Альтернативная обработка результатов.*

Содержание тиаклоприда в пробе рассчитывают по формуле, без учета полноты извлечения вещества из проб:

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

$X$ – содержание тиаклоприда в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мм;

$A$ – концентрация стандартного раствора, мкг/$см^3$;

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

$m$ – масса анализируемого образца, г ($см^3$);

$P$ – содержание тиаклоприда в аналитическом стандарте, %.

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

## 12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

$\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

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

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

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения.

## 13. Контроль качества результатов измерений

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

*13.1.* Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для тиаклоприда проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 6 месяцев, при смене основных градуировочных растворов № 2, 3, 4, 5 и 6 – каждый месяц, а также в начале и по окончании каждой серии анализов.

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

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

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 3{,}59 \text{, где}$$

$X$ – концентрация тиаклоприда контрольного измерения, мкг/см$^3$;

$C$ – известная концентрация градуировочного раствора тиаклоприда в смеси ацетонитрила с водой, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см$^3$;

3,59 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения ($A$) превышает 3,59 %, 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 тиаклоприда, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

***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:

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

$\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

$\delta$ – 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 компо-

нента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля $K$ рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости ($R$):

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

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

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

Приложение 1

**Полнота извлечения тиаклоприда из корнеплодов моркови, из ботвы и корнеплодов столовой свеклы (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)**

| Среда | Внесено тиаклоприда, мг/кг | Обнаружено тиаклоприда, мг/кг | Полнота извлечения, % |
|---|---|---|---|
| Корнеплоды моркови | 0,02 | 0,0155 ± 0,0006 | 77,5 |
| | 0,04 | 0,0326 ± 0,0006 | 81,5 |
| | 0,10 | 0,0851 ± 0,0028 | 85,1 |
| | 0,20 | 0,1628± 0,0082 | 81,4 |
| Ботва столовой свеклы | 0,10 | 0,0846 ± 0,0010 | 84,6 |
| | 0,20 | 0,1695 ± 0,0061 | 84,8 |
| | 0,50 | 0,3981 ± 0,0122 | 79,6 |
| | 1,00 | 0,8355 ± 0,0210 | 83,6 |
| Корнеплоды столовой свеклы | 0,01 | 0,0083 ± 0,0001 | 83,2 |
| | 0,02 | 0,0163 ± 0,0007 | 81,4 |
| | 0,05 | 0,0424 ± 0,0009 | 84,8 |
| | 0,10 | 0,0846 ± 0,0035 | 84,6 |

**Определение остаточных количеств тиаклоприда в корнеплодах моркови, в ботве и корнеплодах столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

**Методические указания**
**МУК 4.1.3416—17**

Ответственный за выпуск Н. В. Карташева

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

Подписано в печать 05.10.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5
Тираж 125 экз. Заказ 70

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