Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств крезоксим-метила в ботве и клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3408—16

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 крезоксим-метила в ботве и клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3408—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств крезоксим-метила в ботве и клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—12 с.

ISBN 978—5—7508—1553—1

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» (И. А. Цибульская, О. К. Остроухова).

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 29 декабря 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

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

Подписано в печать 11.09.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 0,75
Тираж 125 экз. Заказ 57

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

© 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
29 декабря 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств крезоксим-метила в ботве и клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3408—16

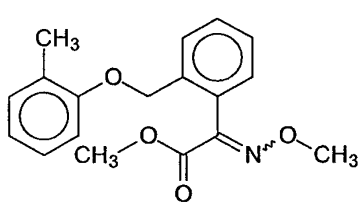
Свидетельство о метрологической аттестации от 14.12.2015 № 01.5.04.204/01.00043/2015.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации крезоксим-метила в ботве и клубнях картофеля в диапазоне концентраций 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Крезоксим-метил

(E)-метил-2-метоксиимино-2-{2-(о-толилокси-метил)фенил}ацетат (IUPAC).



$C_{18}H_{19}NO_4$

Молекулярная масса: 313,4.

Химически чистое вещество представляет собой белое кристаллическое вещество со слабым запахом.

Температура плавления: 97,2—101,7 °С.

Давление пара при 20 °С: $2,3 \times 10^{-3}$ МПа.

Растворимость (в г/дм^3 при 20 °С): вода – 0,002; гептан – 1,7; толуол – 111; дихлорметан – 939; метанол – 14,9; ацетон – 217; этилацетат – 123.

Стабильность к гидролизу при 20 °С: DT_{50} = 34 дня (pH 7), 7 часов (pH 9). В биологически активных почвах в аэробных условиях крезоксим-метил быстро разрушается: DT_{90} = менее 3 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс более 5 000 мг/кг, острая дермальная токсичность LD_{50} для крыс превышает 2 000 мг/кг. Не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика, не обладает мутагенными и сенсибилизирующими свойствами. Не токсичен для пчел, дождевых червей, полезных насекомых и птиц.

Область применения препарата. Синтетический фунгицид из класса стробилуринов, являющихся продуцентами гриба *Strobilurus tenacellus*. Вещество эффективно против широкого круга грибных патогенов хлебных злаков, овощных, кормовых, технических и плодовых культур. Обладает защитным, лечебным и искореняющим действием.

В России для крезоксим-метила МДУ в зерне хлебных злаков 0,1 мг/кг, в сахарной свекле 0,05 мг/кг, для картофеля гигиенические нормативы не установлены.

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.

Таблица 1

Метрологические параметры

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности* (границы относительной погрешности ($P = 0,95$), ±δ, %	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое 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, % ($P = 0,95$)
Ботва	0,05—0,5	23	8	12	22	34
Клубни	0,05—0,5	23	8	12	22	34
* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$						

Таблица 2

Полнота извлечения крезоксим-метила, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Ботва	0,05	0,05 – 0,5	93	6,6	3,3
Клубни	0,05	0,05 – 0,5	95	7,8	3,9

2. Метод измерений

Методика основана на определении крезоксим-метила методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после его извлечения из образцов картофеля водно-органическим экстрагентом, очистки экстракта в системе двух несмешивающихся растворителей.

Идентификация крезоксим-метила проводится по времени удерживания, количественное определение – методом абсолютной калибровки.

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с термоионным детектором и кварцевой капиллярной колонкой длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм с толщиной слоя неподвижной фазы (35 % дифенилсилоксана + 65 % диметилсилоксана) – 0,25 мкм	
Весы аналитические с пределом взвешивания до 210 г и пределом допускаемой погрешности 0,1 мг	ГОСТ 53228—08
Весы технические с пределом взвешивания до 150 г и пределом допускаемой погрешности 0,1 г	ГОСТ 53228—08
Колбы мерные на 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микрошприц МШ-10	ТУ 2-833-106
Пипетки градуированные объемом 1, 2, 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные на 10, 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90

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

3.2. Реактивы

Азот осч, в баллонах с редуктором	ГОСТ 9293—74
Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—86
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан, хч	ТУ 2631-001-54260861—13
Дихлорметан, хч	ТУ 6-09-3716—80
Крезоксим-метил, аналитический стандарт, 98,3 %	
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Натрий сернокислый безводный, чда	ГОСТ 4166—76

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

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Воронки делительные, вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки химические конусные	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737—95
Колбы плоскодонные конические на шлифе вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Ультразвуковая ванна с рабочей частотой 35 кГц	ТУ 3.836.008
Фильтры бумажные средней плотности	ТУ 6.091678-86

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

4. Требования безопасности

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

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83 и необходимые средства для оказания первой (доврачебной) помощи. 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

К выполнению измерений допускается специалист, прошедший обучение, освоивший данную методику, владеющий техникой, имеющий опыт работы в химической лаборатории и подтвердивший соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют 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 определений

7.1. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа капиллярную колонку кондиционируют в токе азота при температуре термостата колонок 250 °С до стабилизации нулевой линии.

7.2. Подготовка растворителей

Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют. Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. Для этого 100 см^3 растворителя испаряют при помощи вакуумного ротационного испарителя при температуре 40 °С до объема 1 см^3 и хроматографируют. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

7.3. Приготовление растворов

7.3.1. Для экстракции крезоксим-метила из матрицы используется раствор ацетон : вода в соотношении 3 : 1 (по объему).

В плоскодонную колбу на 250 см^3 вносят 60 см^3 ацетона и 20 см^2 дистиллированной воды, раствор перемешивают.

7.3.2. Насыщенный раствор хлористого натрия в воде. 320 г хлористого натрия растворяют в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Раствор можно хранить при комнатной температуре в течение недели.

7.4. Приготовление основного и градуировочных растворов

7.4.1. Основной раствор с концентрацией 0,1 мг/$см^3$: точную навеску крезоксим-метила (10 ± 0,1) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в ацетоне и доводят объем до метки тем же растворителем.

Градуировочные растворы с концентрациями крезоксим-метила 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему гексаном.

7.4.2. Раствор № 1 с концентрацией 10,0 мкг/$см^3$: в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 10 $см^3$ основного раствора и доводят до метки гексаном.

7.4.3. Раствор № 2 с концентрацией 5,0 мкг/$см^3$: в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 5,0 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки гексаном.

7.4.4. Раствор № 3 с концентрацией 2,0 мкг/$см^3$: в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 2 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки гексаном.

7.4.5. Раствор № 4 с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$: в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 1 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

Основной раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение недели.

При изучении полноты определения крезоксим-метила в ботве и клубнях картофеля свеклы используют соответствующие ацетоновые растворы вещества, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетоном.

7.5. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация крезоксим-метила в растворе) в хроматограф вводят по 1 $мм^3$ градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации крезоксим-метила в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент (*K*) в уравнении линейной регрессии:

$$C = KS, \text{ где}$$

S – площадь пика градуировочного раствора.

Градуировку признают удовлетворительной, если значение коэффициента линейной корреляции оказывается не ниже 0,99.

Градуировочную характеристику необходимо проверять при замене реактивов, хроматографической колонки или элементов хроматографической системы, а также при отрицательном результате контроля градуировочного коэффициента.

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

$$\frac{|C - C_к|}{C} \cdot 100 \le \lambda_{контр.}, \text{ где}$$

C – аттестованное значение массовой концентрации крезоксим-метила в градуировочном растворе;

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации крезоксим-метила в градуировочном растворе;

$\lambda_{контр.}$ – норматив контроля градуировочного коэффициента, % ($\lambda_{контр.}$= 10 % при P = 0,95).

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб проводится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79), а также в соответствии с ГОСТ 7194—81 «Картофель свежий. Правила приемки и методы определения качества». Отобранные пробы хранят до анализа в герметичной п/э упаковке в морозильной камере при –18 °С. Пробы картофеля перед анализом, не размораживая, измельчают на терке или в гомогенизаторе.

9. Проведение определения

9.1. Определение крезоксим-метила в ботве и клубнях картофеля

Навеску измельченной пробы (20 ± 0,1) г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 70 см^3 смеси ацетон/вода в соотношении 3 : 1 (по объему) и экстрагируют крезоксим-метил в ультразвуковой ванне в течение 10 мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбу. К остатку добавляют 50 см^3 той же смеси и проводят повторную экстракцию. Объединенные экстракты упаривают до водного остатка на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Остаток фильтруют через бумажный фильтр в дели-

тельную воронку вместимостью 250 см^3, добавляют 10 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия и экстрагируют крезоксим-метил тремя порциями по 30 см^3 дихлорметана. Дихлорметановый раствор пропускают через слой безводного сернокислого натрия и упаривают на ротационном испарителе досуха при температуре не выше 40 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 см^3 гексана и 1 мм^3 вводят в испаритель хроматографа.

9.2. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с термоионным детектором и кварцевой капиллярной колонкой длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм с толщиной слоя неподвижной фазы (35 % дифенилсилоксана + 65 % диметилсилоксана) – 0,25 мкм.

Температура колонки программируется от 220 °С (1 мин) до 290 °С (5 мин) со скоростью 25 °С/мин, температура испарителя 300 °С, детектора 380 °С.

Расход газа-носителя (азот) через колонку 11,7 см^3/мин (180 кПа), сброс 4,7 см^3/мин, поддув в детектор 20 см^3/мин, расход водорода 11 см^3/мин, воздуха 200 см^3/мин. Деление потока 1 : 3. Объем вводимой пробы 1 мм^3.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки, содержание крезоксим-метила в пробе (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot K \cdot V}{P} \cdot \frac{100}{f}, \text{ где}$$

S_x – площадь пика крезоксим-метила на хроматограмме испытуемого образца, мв/с;

K – градуировочный коэффициент, найденный на стадии построения соответствующей градуировочной зависимости;

V – объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, см^3;

P – навеска анализируемого образца, г;

f – полнота извлечения крезоксим-метила, приведенная в табл. 2, %.

Содержание остаточных количеств крезоксим-метила в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор крезоксим-метила 10 мкг/см^3, разбавляют гексаном.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

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

«*содержание вещества в пробе менее нижней границы определения*» (например: менее 0,05, где 0,05 мг/кг – предел определения крезоксим-метила в клубнях картофеля).

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. 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:

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

$\pm \Delta_{л,X}$ ($\pm \Delta_{л,X'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,X'} + \Delta^2_{л,X}} \qquad (1)$$

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 к их устранению.

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

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

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

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

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

gost.e-ecolog.ru