Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в зеленой массе, бобах сои, зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3409—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 фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в зеленой массе, бобах сои, зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3409—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в зеленой массе, бобах сои, зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—18 с.

ISBN 978—5—7508—1559—3

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» (В. И. Долженко, Ф. И. Копытова) и ООО «Инновационный центр защиты растений» (И. А. Цибульская, Д. А. Плахов), Санкт-Петербург, Пушкин.

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

ISBN 978—5—7508—1559—3

© 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 фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в зеленой массе, бобах сои, зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3409—16

Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.229/01.00043/2016.

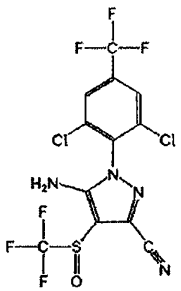
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации фипронила в бобах сои и семенах подсолнечника в диапазоне концентраций 0,001—0,01 мг/кг, в зеленой массе, зерне кукурузы и растительном масле – в диапазоне концентраций 0,005—0,05 мг/кг; метаболита фипронил-сульфона в зеленой массе, бобах сои, семенах подсолнечника, зерне кукурузы и растительном масле – в диапазоне концентраций 0,005—0,05 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

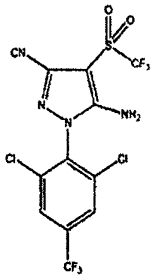
1. **Фипронил**(±)-5-амино-1-(2,6-дихлор-α,α,α-трифтор-р-толил)-4-трифторметилсульфинил-пиразол-3-карбонитрил (IUPAC), брутто формула $C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$, молекулярная масса 437,2.

2. **Фипронил-сульфон**(±)-5-амино-1-(2,6-дихлор-α,α,α-трифтор-р-толил)-4-ифторметилсульфонил-пиразол-3-карбонитрил (IUPAC), брутто формула $C_{12}H_4Cl_2F_6N_4O_2S$, молекулярная масса 453,2.

1



2



Фипронил представляет собой бесцветные кристаллы с запахом плесени.

Температура плавления 195,5—203,0 °С; давление пара при 20 °С $3,7 \cdot 10^{-4}$ МПа.

Коэффициент распределения н-октанол–вода: $K_{ow}logP = 4,00$ (при 20 °С).

Растворимость в воде – 1,9—2,4 мг/дм^3; в ацетоне – 54,59, дихлорметане – 2,23, этилацетате – 26,49, дихлорметане – 2,23, метаноле – 13,75, в н-гексане – 0,0028 (г/100 см^3).

Вещество термически стабильно, не гидролизуется при pH 5—7, при pH 9 гидролизуется на 50 % в течение 28 дней, не разрушается в присутствии металлов.

В растениях фипронил в результате окисления метаболизируется до фипронил-сульфона.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс – 97 мг/кг, для мышей – 95 мг/кг; острая дермальная токсичность LD_{50} для крыс > 2 000 мг/кг, для кроликов 354 мг/кг; не оказывает раздражающего действия на кожу и глаза кролика.

Не мутаген, не тератоген, не отражается на репродуктивной функции.

Высокотоксичен для пчел при контактном и кишечном воздействии, безопасен при внесении в почву и обработке семян перед посевом. При обработке почвы проникает в вегетирующие растения кукурузы и подсолнечника не более 5 %.

Область применения. Фипронил – инсектицид из группы арилпиразолов, контактного, кишечного и частично системного действия, обладает длительным защитным эффектом. Обладает очень хорошим остаточным последействием после обработки по вегетации, также применяется

против почвообитающих вредителей при обработке семян перед посевом.

Гигиенические нормативы для фипронила в России. МДУ в семенах подсолнечника – 0,002 мг/кг, кукурузе – 0,01 мг/кг.

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—4.

Таблица 1

Фипронил. Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности* (границы относительной погрешности ($P = 0,95$), $\pm\delta$, %	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, % ($P = 0,95$)
Зеленая масса	0,005—0,05	24	8	12	22	34
Семена подсолнечника	0,001—0,01	24	8	12	22	34
Бобы сои	0,001—0,01	24	8	12	22	34
Зерно кукурузы	0,005—0,05	24	8	12	22	34
Растительное масло	0,005—0,05	24	8	12	22	34
* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$						

Таблица 2

Полнота извлечения фипронила, стандартное отклонение и доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел количественного определения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Зеленая масса	0,005	0,005—0,05	79,3	6,0	4,6
Семена подсолнечника	0,001	0,001—0,01	76,5	6,9	5,3
Бобы сои	0,001	0,001—0,01	84,5	5,8	4,5
Зерно кукурузы	0,005	0,005—0,05	80,1	6,2	4,7
Растительное масло	0,005	0,005—0,05	77,3	5,2	4,0

Таблица 3

Фипронил-сульфон. Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности* (границы относительной погрешности ($P = 0,95$), $\pm\delta$, %	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, % ($P = 0,95$)
Зеленая масса	0,005—0,05	25	10	14	28	39
Семена подсолнечника	0,005—0,05	25	10	14	28	39
Бобы сои	0,005—0,05	25	10	14	28	39
Зерно кукурузы	0,005—0,05	25	10	14	28	39
Растительное масло	0,005—0,05	25	10	14	28	39
* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$						

Таблица 4

Полнота извлечения фипронил-сульфона, стандартное отклонение и доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел количественного определения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Зеленая масса	0,005	0,005—0,05	76,0	4,5	3,0
Семена подсолнечника	0,005	0,005—0,05	75,0	4,7	3,1
Бобы сои	0,005	0,005—0,05	79,9	4,8	3,2
Зерно кукурузы	0,005	0,005—0,05	77,0	4,8	3,2
Растительное масло	0,005	0,005—0,05	75,4	5,9	3,9

2. Метод измерений

Методика основана на определении фипронила и фипронил-сульфона методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием электронно-захватного детектора после экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта в системе двух несмешивающихся растворителей и на колонке с флорисилом.

Идентификация фипронила и фипронил-сульфона проводится по времени удерживания, количественное определение – методом абсолютной калибровки.

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

3. Средства измерений, реактивы, материалы и вспомогательные устройства

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с электроннозахватным 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 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микрошприц МШ-10	ТУ 2-833-106
Пипетки градуированные объемом 1, 2, 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с притертыми пробками на 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 25336—82
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

Фипронил, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 97,9 %	
Фипронил-сульфон, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,0%	
Азот, осч, в баллонах с редуктором	ГОСТ 9293—74
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан, хч	ТУ 2631-001-54260861—13
Натрий сернокислый безводный (сульфат), чда	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, чда	ГОСТ 4233—77
Флорисил для колоночной хроматографии 60—100 меш	
Элюент № 1 для колоночной хроматографии – смесь гексан–этилацетат (4 : 1, по объему)	
Элюэнт № 2 для колоночной хроматографии – смесь гексан–этилацетат (1 : 1, по объему)	
Этилацетат, хч	ГОСТ 22300—76

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

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Воронки делительные на 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 8613—75
Воронки химические конусные, В-75-100	ГОСТ 25336—82
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80

Водоструйный насос	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные конические вместимостью 250 и 500 см^3	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 50, 100 и 250 см^3	ГОСТ 9737—93
Колбы грушевидные на 50, 100 и 250 см^3	ГОСТ 25336—82
Колонка стеклянная длиной 25 см и диаметром 10 мм	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, с пределом вакуума до 10 мбар	
Центрифуга со скоростью вращения 4 000 об./мин	
Стекловата	
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 25 °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. Подготовка хроматографической колонки

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и диаметром 10 мм вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г флорисила в 10 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (1 : 1 по объему), после чего она готова к работе.

7.4. Проверка хроматографического поведения фипронила и фипронил-сульфона на колонке с флорисилом

В круглодонную колбу емкостью 10 см^3 отбирают 1 см^3 стандартного раствора фипронила или фипронил-сульфона с концентрацией 1 мкг/см^3. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 5 см^3 элюента № 1 (смесь гексан–этилацетат = 4 : 1 по объему) и наносят на подготовленную колонку. Промывают колонку 10 см^3 гексана и 5 см^3 элюента № 1. Элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 50 см^3 элюента № 2 (смесь гексан–этилацетат = 1 : 1 по объему), отбирая фракции по 10 см^3. Каждую фракцию упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре до 30 °С, растворяют в 2 см^3 гексана и анализируют на содержание фипронила или фипронил-сульфона.

Фракции, содержащие фипронил или фипронил-сульфон, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 1 см^3 гексана и вновь анализируют на содержание искомых веществ. Рассчитывают содержание фипронила или фипронил-сульфона в элюате, определяют полноту вымывания из колонки и номера фракций, где содержится искомое вещество, и необходимый для этого объем элюента.

Примечание. Проверку хроматографического поведения фипронила или фипронил-сульфона следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

7.5. Приготовление основного и градуировочных растворов

7.5.1. Основной раствор с концентрацией 100 мкг/см^3: точную навеску фипронила или фипронил-сульфона (10 ± 0,1) мг помещают в мерную колбу на 100 см^3, растворяют в гексане и доводят объем до метки тем же растворителем.

Рабочий раствор для проверки хроматографического поведения фипронила или фипронил-сульфона на колонке с флорисилом и для приготовления градуировочных растворов готовят из основного раствора разбавлением гексаном.

7.5.2. Рабочий раствор с концентрацией фипронила или фипронил-сульфона 1 мкг/см^3: в мерную колбу на 100 см^3 вносят 1 см^3 раствора с концентрацией 100 мкг/см^3 и доводят объем до метки гексаном.

7.5.3. Градуировочные растворы с концентрациями 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 мкг/см^3.

7.5.3.1. Раствор № 1 с концентрацией фипронила или фипронил-сульфона 0,1 мкг/см^3: в мерную колбу на 10 см^3 помещают 1 см^3 рабочего раствора с концентрацией 1 мкг/см^3 и доводят объем до метки гексаном.

7.5.3.2. Раствор № 2 с концентрацией фипронила или фипронил-сульфона 0,05 мкг/см^3: в мерную колбу на 10 см^3 вносят 5 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки гексаном.

7.5.3.3. Раствор № 3 с концентрацией фипронила или фипронил-сульфона 0,01 мкг/см^3: в мерную колбу на 10 см^3 помещают 1 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки гексаном.

7.5.3.4. Раствор № 4 с концентрацией фипронила или фипронил-сульфона 0,005 мкг/см^3: в мерную колбу на 10 см^3 вносят 1 см^3 раствора № 2 и доводят объем до метки гексаном.

Основной раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 6 месяцев, рабочий раствор – не более 2 месяцев, градуировочные растворы № 1—4 – не более 7 дней.

Для внесения в образец при определении полноты извлечения используют растворы, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему гексаном.

7.6. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация фипронила или фипронил-сульфона 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 определяемого компонента 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.

8. Отбор и хранение проб

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), отбор проб семян подсолнечника, бобов сои и зерна кукурузы для анализа проводят также в соответствии с ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб».

Зеленую массу хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С до анализа. Семена, бобы и зерно хранят при комнатной температуре в полотняных мешочках, перед анализом доводят до стандартной влажности и измельчают. Растительное масло хранят в холодильнике при температуре 0—4 °С в герметично закрытой стеклянной таре в течение 6 месяцев.

9. Выполнение определения

9.1.1. Экстракция фипронила и фипронил-сульфона из зеленой массы и первичная очистка экстрактов.

Навеску измельченной зеленой массы (10 ± 0,1) г вносят в колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 80 см^3 ацетонитрила и помещают в ультразвуковую баню на 15 мин. Полученный экстракт фильтруют через бумажный фильтр средней плотности в колбу-концентратор на 250 см^3. Экстракцию повторяют с 50 см^3 ацетонитрила. Осадок на фильтре промывают 10 см^3 ацетонитрила. Объединенный экстракт помещают в делительную воронку объемом 250 см^3, куда добавляют 30 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия. Воронку встряхивают в течение 2 мин и после разделения слоев нижний водный слой отбрасывают. К ацетонитрильному раствору добавляют 40 см^3 гексана и встряхивают воронку в течение 2 мин. Нижний ацетонитрильный слой отбирают, фильтруют через бумажный фильтр средней плотности с 10 г безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 см^3, а гексановую фракцию отбрасывают. Объединенный экстракт упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку проводят по п. 9.2.

9.1.2. Экстракция фипронила и фипронил-сульфона из семян подсолнечника, бобов сои и зерна кукурузы и первичная очистка экстрактов.

Навеску измельченных семян подсолнечника, бобов сои или зерна кукурузы (10 ± 0,1) г вносят в колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 ацетонитрила и экстрагируют в ультразвуковой ванне в течение 15 мин. Полученный экстракт фильтруют через бумажный фильтр средней плотности в колбу-концентратор на 250 см^3. Экстракцию повторяют дважды. Осадок на фильтре промывают 10 см^3 ацетонитрила. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 ацетонитрила и добавляют 40 см^3 воды, снова фильтруют через бумажный фильтр средней плотности в делительную воронку объемом 250 см^3, куда добавляют 15 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия и 20 см^3 гексана. Воронку встряхивают в течение 2 мин и после разделения слоев

отбирают нижнюю фракцию, фильтруют через бумажный фильтр средней плотности с 10 г безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 $см^3$. Гексановую фракцию отбрасывают. Промывку ацетонитрильного слоя гексаном (по 20 $см^3$) повторяют дважды. Объединенный ацетонитрильный экстракт упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку проводят по п. 9.2.

9.1.3. Экстракция фипронила и фипронил-сульфона из растительного масла и первичная очистка экстракта.

Навеску масла (10 ± 0,1) г в колбе на 250 $см^3$ растворяют в 50 $см^3$ гексана и экстрагируют определяемые вещества 50 $см^3$ ацетонитрила в ультразвуковой ванне в течение 15 мин. Полученную смесь переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. В делительной воронке экстрагируют фипронил и фипронил-сульфон трижды порциями по 25 $см^3$ ацетонитрила. Гексановый слой отбрасывают. Объединенный ацетонитрильный экстракт собирают в грушевидную колбу на 250 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Дальнейшую очистку на колонке проводят по п. 9.2.

9.2. Очистка экстрактов на колонке с флорисилом

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.1—9.1.3 количественно переносят тремя порциями по 1 $см^3$ элюента № 1 в подготовленную по п. 7.3 стеклянную хроматографическую колонку с флорисилом. Последовательно промывают колонку 20 $см^3$ гексана и 5 $см^3$ элюента № 1 (гексан–этилацетат = 4 : 1) и 5 $см^3$ элюента № 2 (гексан–этилацетат = 1 : 1). Элюат отбрасывают. Фипронил и фипронил-сульфон элюируют 20 $см^3$ элюента № 2. Элюат собирают в грушевидную колбу-концентратор и упаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С до сухого остатка. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ гексана и вводят в испаритель хроматографа 1 $мм^3$ полученного раствора.

9.3. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с электронозахватным детектором. Капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм с толщиной слоя неподвижной фазы (дифенилсилоксан – 35 % + диметилсилоксан – 65 %) 0,25 мкм. Температура колонки: программирование от 150 °С (1 мин) до 300 °С со скоростью 20 °С/мин. Температура испарителя 250 °С. Температура детектора 340 °С. Расход газа-носителя (азот) – 32 $см^3$/мин с разделением потока 1 : 20. Хроматографируемый объем 1 $мм^3$.

Время удерживания фипронила (9,1 ± 0,1) мин, фипронил-сульфона (10,6 ± 0,1) мин.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание фипронила или фипронил-сульфона (по отдельности) 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 определяемого компонента на хроматограмме испытуемого образца, мм^2 (AU);

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 определяемого компонента, приведенная в табл. 2 и 4, %.

Содержание остаточных количеств фипронила или фипронил-сульфона в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор фипронила или фипронил-сульфона с концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют гексаном.

Содержание фипронила в пробах ($X_ф$) вычисляют как сумму концентраций фипронила и его метаболита в пересчете на исходное действующее вещество:

$$X_ф = C_ф + 0{,}96 \cdot C_{ф\text{-}с}, \text{ где}$$

$C_ф$ – содержание фипронила в пробе, мг/кг;

$C_{ф\text{-}с}$ – содержание фипронил-сульфона в пробе, мг/кг.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1 и 3 раздела «Погрешность измерений»), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1 и 3 раздела «Погрешность измерений»), %.

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 0,001 мг/кг, где 0,001 мг/кг – предел количественного определения фипронила в семенах подсолнечника).

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. 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:

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

C – аттестованное значение массовой концентрации определяемого компонента в градуировочном растворе;

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации определяемого компонента в градуировочном растворе;

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

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, 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 и 3), %.

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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 предела воспроизводимости (*R*):

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

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

R – предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1 и 3 раздела «Погрешность измерений»), %.

Определение остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона в зеленой массе, бобах сои, зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3409—16

Ответственный за выпуск Н. В. Карташева

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

Подписано в печать 18.09.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 60

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