Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов в плодах томатов и томатном соке, капусте белокочанной, гречихе и горохе (нуте) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3362—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 клетодима и его основных метаболитов в плодах томатов и томатном соке, капусте белокочанной, гречихе и горохе (нуте) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3362—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов в плодах томатов и томатном соке, капусте белокочанной, гречихе и горохе (нуте) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1533—3

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» (В. И. Долженко, С. Е. Маслаков) и ООО «Инновационный центр защиты растений» (И. А. Цибульская, В. Ф. Павлова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 20 мая 2016 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 1 июля 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1533—3

© Роспотребнадзор, 2017
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
1 июля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов в плодах томатов и томатном соке, капусте белокочанной, гречихе и горохе (нуте) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3362—16

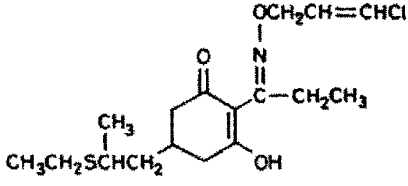
Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.224/01.00043/2015.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения остаточных количеств клетодима в плодах томатов, капусте белокочанной, гречихе и горохе в диапазоне концентраций 0,1—1,0 мг/кг, в томатном соке – 0,05—0,5 мг/кг и его основных метаболитов – клетодим сульфоксида и клетодим сульфона на всех матрицах в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Клетодим

(E,E)-(+)-2-{1-[[3-хлоро-2-(пропенил)окси]имино]пропил}-5-[2-(этилтио)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1 (IUPAC)



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{26}ClNO_3S$
Молекулярная масса: 359,92

Химически чистый клетодим представляет собой вязкую жидкость светло-желтого цвета со слабым ароматическим запахом.

Удельная масса технического клетодима – 1 140 кг/м^3.

Давление паров при 25 °С менее 0,013 мПа.

Разлагается при температуре ниже точки кипения.

Растворимость в воде 54 мг/л при pH = 7.

Растворимость в органических растворителях: более 900 г/л в большинстве растворителей.

Коэффициент распределения в системе октанол–вода – 1,5 × 10^7.

Температура вспышки 62 °С.

Клетодим нестабилен. Разлагается под действием УФ света, при повышенных температурах и экстремальных значениях pH. В аэробных условиях окисляется и разлагается с периодом полураспада от 1 до 3 дней. Относительно устойчив в водных растворах с pH 7—10 при отсутствии солнечного света. Период полураспада в результате гидролиза в водных растворах с pH 7 и pH 9 составляет 300 и 310 дней соответственно.

Основные продукты метаболизма – клетодим сульфон и клетодим сульфоксид.

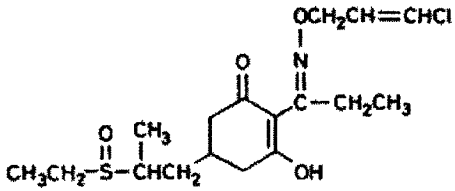
Основные метаболиты:

Клетодим сульфоксид

Название по ИСО: клетодим сульфоксид.

Название действующего вещества по ИЮПАК: (E,E)-(+)-2-{1-[[3-хлоро-2-(пропенил) окси] имино]пропил}-5-[2-(этилсульфоксид)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{26}ClNO_4S$

Молекулярная масса: 375,9.

Химически чистый клетодим сульфоксид представляет собой белое кристаллическое вещество.

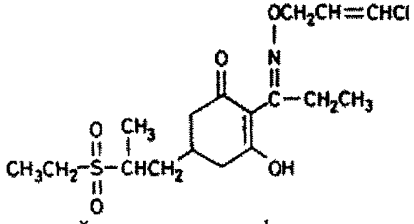
Растворимость в органических растворителях: хорошо растворим в большинстве органических растворителей.

Является основным метаболитом при разложении клетодима в почве в аэробных условиях, в воде (при условиях, способствующих фотолизу) и растениях. Клетодим сульфоксид нестабилен. Период полураспада в почве от 2,5 до 20 дней.

Клетодим сульфон.

Название по ИСО: клетодим сульфон.

Структурная формула:



Химически чистый клетодим сульфон представляет собой белое кристаллическое вещество.

Растворимость в органических растворителях: хорошо растворим в большинстве органических растворителей.

Является одним из основных метаболитов при разложении клетодима в почве в аэробных условиях. Клетодим сульфон нестабилен. Период полураспада в почве от 1 до 2 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс 300—623 мг/кг, острая дермальная токсичность LD_{50} для крыс 2 000 мг/кг. Оказывает незначительное раздражающее действие на слизистую глаз кролика. Побочные отрицательные эффекты не обнаружены.

Область применения препарата: послевсходовый гербицид для применения на широколистных культурах (свекле, картофеле, масличных культурах, бобовых и других) для борьбы с одно- и многолетними сорняками.

Гигиенические нормативы для клетодима в России: МДУ в продукции: горох – 2,0 мг/кг; томаты – 1,0 мг/кг; для капусты белокочанной и гречихи не установлен.

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

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности* (границы относительной погрешности ($P = 0,95$), $\pm\delta$, %	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости, σ_r, %	Показатель воспроизводимости (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, полученными в разных лабораториях), R, % ($P = 0,95$)
Клетодим						
Горох	0,1—1,0	22	6	10	17	28
Томаты	0,1—1,0	22	6	10	17	28
Томатный сок	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Капуста белокочанная	0,1—1,0	22	6	10	17	28
Гречиха	0,1—1,0	22	6	10	17	28
Клетодим сульфоксид						
Горох	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Томаты	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Томатный сок	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Капуста белокочанная	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Гречиха	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Клетодим сульфон						
Горох	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Томаты	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Томатный сок	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Капуста белокочанная	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Гречиха	0,05—0,5	22	6	10	17	28

*) соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$

Таблица 2

Полнота извлечения клетодима, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

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, ±, %
Горох	0,1	0,1—1,0	71,3	6,5	5,2
Томаты	0,1	0,1—1,0	74,3	4,2	3,4
Томатный сок	0,05	0,05—0,5	75,2	5,9	4,7
Капуста белокочанная	0,1	0,1—1,0	71,6	4,7	3,7
Гречиха	0,1	0,1—1,0	73,1	5,1	4,1

Таблица 3

Полнота извлечения клетодим сульфоксида, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

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, ±, %
Горох	0,05	0,05—0,5	76,2	6,9	5,5
Томаты	0,05	0,05—0,5	69,1	5,7	4,6
Томатный сок	0,05	0,05—0,5	71,5	4,6	3,7
Капуста белокочанная	0,05	0,05—0,5	77,4	4,2	3,4
Гречиха	0,05	0,05—0,5	73,4	5,8	4,6

Таблица 4

Полнота извлечения клетодим сульфона, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

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, ±, %
Горох	0,05	0,05—0,5	74,2	5,4	4,3
Томаты	0,05	0,05—0,5	75,7	4,3	3,4
Томатный сок	0,05	0,05—0,5	73,6	6,2	5,0
Капуста белокочанная	0,05	0,05—0,5	74,8	4,5	3,6
Гречиха	0,05	0,05—0,5	72,5	5,1	4,1

2. Метод измерений

Определение клетодима и его метаболитов в образцах осуществляется методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием УФ-детектора после его экстракции из образцов гороха и гречихи, белокочанной капусты, томатов и томатного сока и очистки на патронах для твердофазной экстракции (ТФЭ).

Идентификация клетодима и его метаболитов проводится по временам 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

Жидкостный хроматограф с УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Весы аналитические с пределом взвешивания до 210 г и пределом допускаемой погрешности 0,1 мг	ГОСТ Р 53228—08
Весы технические с пределом взвешивания до 150 г и пределом допускаемой погрешности 0,1 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 50, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микродозаторы одноканальные переменного объема от 100 до 1 000 $мм^3$ и от 1 до 5 $см^3$	
Цилиндры мерные на 50, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 23932—90

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

3.2. Реактивы

Ацетонитрил для ВЭЖХ	ТУ 2634-002-04715285—12
Ацетон, чда	ГОСТ 2603—79
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ Р 52501—05
Гексан, хч	ТУ 2631-003-05807999—98
Клетодим, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,0 %	

Клетодим сульфоксид, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,0 %	
Клетодим сульфон, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,0 %	
Натрий сернокислый безводный (сульфат), хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый (хлорид натрия), хч	ГОСТ 4233—77
Подвижные фазы для ВЭЖХ: смесь ацетонитрила и 1 % водного раствора уксусной кислоты в соотношениях 70 : 30 и 60 : 40	
Раствор № 1 (гексан–этилацетат в соотношении 9 : 1)	
Раствор № 2 (гексан–этилацетат в соотношении 3 : 1)	
Раствор № 3 (гексан–этилацетат в соотношении 1 : 4)	
Уксусная кислота (ледяная), хч	ГОСТ 61—75
Хлороформ, чда	ГОСТ 20015—88
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), чда	ГОСТ 22300—76

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

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, (150 × 3,9) мм с зернением 5 мкм	
Воронки делительные емкостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737-9
Воронки химические конусные	ГОСТ 25336-82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 50, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737-93
Колбы плоскодонные конические вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336-82
Патроны для твердофазной экстракции, заполненные гидрофильным слабокислотным сорбентом с постоянной активностью, на основе гексадецилсилана (С16), масса сорбента по 0,4 г	ТУ 4215-002-0545-931-94
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, с пределом вакуума до 10 мбар	

Устройство перемешивающее (50—200 колебаний в минуту)	ТУ 4389-007-44330709—11
Установка для твердофазной экстракции	
Фильтры низкой плотности	ТУ 2642-001-05015242—07

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 жидкостный 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. 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.

5. Требования к квалификации операторов

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

6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют следующие условия:

- приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;
- измерения на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов и раствора внесения, установление градуировочных характеристик, приготовление смесей растворителей, растворов для экстракции и очистки экстрактов, подготовка патронов для твердофазной экстракции (ТФЭ) и проверка поведения клетодима и его метаболитов на патронах.

7.1. Кондиционирование колонки

Перед началом работы аналитические колонки кондиционируют в потоке подвижной фазы до стабилизации нулевой линии не менее 30 мин.

7.2. Кондиционирование патрона для твердофазной экстракции

Патрон промывают 3 $см^3$ смеси № 1, затем 3 $см^3$ гексана.

7.3. Подготовка растворителей и приготовление растворов

7.3.1. Подготовка растворителей. Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют. Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

7.3.2. Раствор № 1 (гексан–этилацетат в соотношении 9 : 1). 450 $см^3$ гексана помещают в мерную колбу на 500 $см^3$ и добавляют 50 $см^3$ этилацетата, перемешивают.

7.3.3. Раствор № 2 (гексан–этилацетат в соотношении 3 : 1). 375 $см^3$ гексана помещают в мерную колбу на 500 $см^3$ и добавляют 125 $см^3$ этилацетата, перемешивают.

7.3.4. Раствор № 3 (гексан–этилацетат в соотношении 1 : 4). 400 $см^3$ этилацетата помещают в мерную колбу на 500 $см^3$ и добавляют 100 $см^3$ гексана, перемешивают.

7.3.5. 1 % раствор уксусной кислоты. В мерную колбу емкостью 1 000 $см^3$ помещают 10 $см^3$ ледяной уксусной кислоты и доводят бидистиллированной водой до метки.

7.4. Приготовление основного и градуировочных растворов

7.4.1. Основной раствор клетодима с концентрацией 0,1 мг/$см^3$: точную навеску клетодима (10 ± 0,2) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в 50—60 $см^3$ ацетонитрила, доводят объем до метки ацетонитрилом и тщательно перемешивают.

7.4.2. Раствор клетодима № 1 с концентрацией 5,0 мкг/см^3 для градуировки: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 5,0 см^3 основного раствора и доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

7.4.3. Рабочие растворы клетодима № 2—4 с концентрацией 0,5—2,5 мкг/см^3 для градуировки: в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 10; 20 и 50,0 см^3 раствора № 1 и доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают. Получены рабочие растворы с концентрациями клетодима 0,5; 1,0 и 2,5 мкг/см^3.

7.4.4. Основной раствор клетодим сульфоксида с концентрацией 0,1 мг/см^3: точную навеску клетодим сульфоксида (10 ± 0,2) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в 50—60 см^3 ацетонитрила, доводят объем до метки ацетонитрилом и тщательно перемешивают.

7.4.5. Раствор клетодим сульфоксида № 5 с концентрацией 5,0 мкг/см^3 для градуировки: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 5,0 см^3 основного раствора и доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

7.4.6. Рабочие растворы клетодим сульфоксида № 6—8 с концентрацией 0,5—2,5 мкг/см^3 для градуировки: в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 10; 20 и 50,0 см^3 раствора № 5 и доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают. Получены рабочие растворы с концентрациями клетодима 0,5; 1,0 и 2,5 мкг/см^3.

7.4.7. Основной раствор клетодим сульфона с концентрацией 0,1 мг/см^3: точную навеску клетодим сульфона (10 ± 0,2) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в 50—60 см^3 ацетонитрила, доводят объем до метки ацетонитрилом и тщательно перемешивают.

7.4.8. Раствор клетодим сульфона № 9 с концентрацией 5,0 мкг/см^3 для градуировки: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 5,0 см^3 основного раствора и доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

7.4.9. Рабочие растворы клетодим сульфона № 10—12 с концентрацией 0,5—2,5 мкг/см^3 для градуировки: в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 10; 20 и 50,0 см^3 раствора № 9 и доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают. Получены рабочие растворы с концентрациями клетодима 0,5; 1,0 и 2,5 мкг/см^3.

Основные и градуировочные растворы можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 15 дней.

7.4.10. Рабочий раствор клетодима, клетодим сульфона и клетодим сульфоксида № 2—4 с концентрацией по 1,0 мкг/см^3 каждого для изучения хроматографического поведения клетодима и его метаболитов на патроне для твердофазной экстракции: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают по 2,0 см^3 рабочих растворов № 1, 5, 9, доводят до метки ацетонитрилом и тщательно перемешивают.

При изучении полноты извлечения клетодима используют растворы, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

7.5. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация клетодима, клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в растворах) в хроматограф вводят по 20 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 графики зависимости среднего значения площадей пиков от концентрации клетодима, клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в градуировочных растворах.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочные коэффициенты (K) в уравнениях 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:

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

C – аттестованное значение массовой концентрации клетодима (клетодим сульфона и клетодим сульфоксида) в градуировочных растворах;

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации клетодима (клетодим сульфона и клетодим сульфоксида) в градуировочных растворах;

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

7.6. Проверка хроматографического поведения клетодима и его метаболитов на патроне для твердофазной экстракции

На подготовленный патрон (п. 7.2) вносят 1 см^3 рабочего стандартного раствора, приготовленного по п. 7.4.10, с концентрацией клетодима, клетодим сульфона, клетодим сульфоксида по 1,0 мкг/см^3 каждого. Промывают патрон 3 см^3 гексана, элюат отбрасывают. Затем элюируют клетодим раствором № 1 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают 3 фракции по 2 см^3, упаривают досуха, растворяют в 1 см^3 каждую и анализируют по п. 9.3.

Фракции, содержащие клетодим, объединяют и вновь анализируют.

Продолжают элюировать клетодим сульфон раствором № 2 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают 3 фракции по 2 см^3, упаривают досуха, растворяют в 1 см^3 ацетонитрила каждую и анализируют по п. 9.3.

Фракции, содержащие клетодим сульфон, объединяют и вновь анализируют.

Продолжают элюировать клетодим сульфоксид раствором № 3 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают 3 фракции по 2 см^3, упаривают досуха, растворяют в 1 см^3 ацетонитрила каждую и анализируют по п. 9.3.

Фракции, содержащие клетодим сульфоксид, объединяют и вновь анализируют.

Устанавливают концентрацию вещества в элюатах, определяют полноту смывания с патрона и необходимый для очистки объем элюентов.

Примечание. Проверку хроматографического поведения клетодима и его метаболитов на патроне следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии патронов и растворителей.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79) а также в соответствии с ГОСТ Р 51809—01 «Капуста белокочанная, свежая, реализуемая в розничной торговой сети. Технические условия»; ГОСТ 1725—85 «Томаты свежие. Технические условия»; ГОСТ 28674—90 «Горох. Требования при заготовках и поставках»; ГОСТ Р 56105—2014 «Гречиха. Техниче-

ские условия». Пробы томатов и капусты хранят в морозильной камере при температуре –18 °С. Для длительного хранения зерно гороха и гречиху подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие образцы могут храниться в течение года. Перед анализом пробы гороха и гречихи доводят до стандартной влажности и измельчают. Пробы томатов и капусты перед анализом, не размораживая, измельчают на терке или в гомогенизаторе.

9. Проведение определения

9.1. Экстракция клетодима и его метаболитов из проб гречихи и гороха

Навеску измельченной пробы 10 г помещают в центрифужный стакан на 100 см^3, добавляют 2 г хлорида натрия и 30 см^3 хлороформа, плотно закрывают крышкой, встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин и центрифугируют 10 мин (n = 4 000 об./мин). Содержимое фильтруют в круглодонную колбу емкостью 100 см^3 методом декантации через фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют 2 раза по 30 см^3 хлороформа. Объединенный экстракт упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С.

9.2. Экстракция клетодима и его метаболитов из проб плодов томатов, томатного сока и капусты белокочанной

Навеску измельченной пробы или томатного сока 10 г помещают в коническую колбу на 100 см^3, добавляют 2 г хлорида натрия и 30 см^3 хлороформа, плотно закрывают пробкой и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Экстракт переносят в делительную воронку на 100 см^3 и отделяют органическую фазу, фильтруя ее через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу емкостью 100 см^3. Водную фазу возвращают к навеске и повторяют экстракцию 2 раза по 30 см^3 хлороформа. Объединенный экстракт упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С.

9.3. Очистка на патроне для твердофазной экстракции

Сухой остаток, полученный по п. 9.1—9.2, растворяют в 1 см^3 гексана и вносят на предварительно кондиционированный патрон (п. 7.2), колбу ополаскивают 1 см^3 гексана и также наносят на патрон. Патрон промывают 3 см^3 гексана, элюат отбрасывают. Клетодим элюируют 5 см^3 раствора № 1 (фракция 1), продолжают элюировать клетодим суль-

фон 5 см^3 раствора № 2 (фракция 2) и клетодим сульфоксид 5 см^3 раствора № 3 (фракция 3). Элюаты собирают каждый отдельно, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С (в токе воздуха при комнатной температуре), остаток растворяют в 1—2 см^3 ацетонитрила и 20 мм^3 вводят в хроматограф.

9.5. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки.

Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18 (150 × 3,9) мм с зернением 5 мкм.

Элюирование в системе ацетонитрил–вода – 1 % раствор уксусной кислоты в соотношении 70 : 30 по объему. Скорость потока элюента 1,0 см^3/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 254 нм. Объем вводимой пробы 20 мм^3. Детектирование при длине волны 254 нм. Время удерживания клетодима – (18,6 ± 0,5) мин, клетодим сульфоксида – (4,25 ± 0,2) мин, клетодим сульфона – (5,45 ± 0,2) мин. Предколонка для защиты аналитической колонки, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18 (40 × 3,9) мм с зернением 5 мкм. Температура колонки комнатная.

Примечание. В случае наличия в экстрактах, мешающих определению клетодим сульфона и клетодим сульфоксида, коэкстрактивных веществ рекомендуется дополнительно провести элюирование в системе ацетонитрил–вода – 1 % раствор уксусной кислоты в соотношении 60 : 40 по объему. При этом составе подвижной фазы время удерживания клетодим сульфоксида (5,25 ± 0,2) мин, клетодим сульфона – (7,6 ± 0,2) мин.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание клетодима, клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в пробе (каждого по отдельности X, мг/кг) вычисляют по формуле:

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

S_x – площадь пика клетодима 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.

Содержание остаточных количеств каждого из определяемых веществ в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор клетодима или его метаболитов с концентрацией 5,0 $мкг/см^3$, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

Содержание клетодима в пробах ($X_{кл}$) вычисляют как сумму концентраций клетодима и его метаболитов в пересчете на исходное действующее вещество:

$$X_{кл} = C_{кл} + C_{ксо} \cdot 0{,}96 + C_{ксф} \cdot 1{,}01, \text{ где}$$

$C_{кл}$ – содержание клетодима в пробе, мг/кг;

$C_{ксо}$ – содержание клетодим сульфоксида в пробе, мг/кг;

$C_{ксф}$ – содержание клетодим 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 (1):

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

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

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

«*содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения*» (например: менее 0,05 мг/кг*, где * – 0,05 мг/кг – предел обнаружения клетодима в томатном соке).

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:

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

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

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

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), %.

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где} \qquad (1)$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – 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:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л.\bar{X}'} + \Delta^2_{л.\bar{X}}} \quad (2)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \quad (3)$$

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 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):

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

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

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

Определение остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов в плодах томатов и томатном соке, капусте белокочанной, гречихе и горохе (нуте) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3362—16

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор К. В. Шмат
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 31.01.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 6

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