Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пропиконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3368—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 пропиконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3368—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств пропиконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017.—22 с.

ISBN 978—5—7508—1523—4

1. Разработаны «Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, А. В. Довгилевич, О. И. Рыбакова. 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 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 5 июля 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1523—4

© 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
5 июля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пропиконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

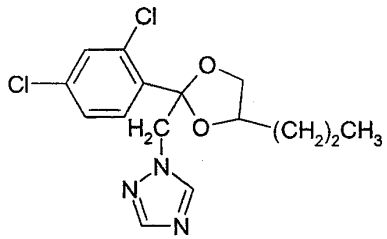
Методические указания МУК 4.1.3368—16

Свидетельство о метрологической аттестации РОСС RU.0001.310430/0215.16.10.14 от 16.10.2014.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств пропиконазола в зеленой массе кукурузы в диапазоне 0,1—1,0 мг/кг, в зерне и масле кукурузы в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг. Методические указания носят рекомендательный характер.

Пропиконазол

(±)-1-[2-(2,4-дихлорфенил)-4-пропил-1,3-диоксолан-2-метил]-1H-1,2,4-триазол.



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$.
Молекулярная масса: 342,2.
Агрегатное состояние: вязкая жидкость.

Цвет, запах: желтоватый.

Давление насыщенного пара $5,6 \times 10^{-2}$ мПа (при 25 °С), $2,7 \times 10^{-2}$ МПа (при 20 °С).

Коэффициент распределения в системе октанол/вода: $K_{ow}logP$ = 3,72 (при 25 °С, pH 6,6).

Растворимость в воде: 100 мг/дм^3 (при 20 °С).

При 25 °С растворим в большинстве органических растворителей (этанол, ацетон, толуол), в гексане – 47 г/дм^3.

Пропиконазол несущественно гидролизуется в щелочной и кислой средах.

Период полураспада в почве (20—25 °С) от 29 до 70 дней. $ДТ_{50}$ в воде – 6,4 дня.

Краткая токсикологическая характеристика. Пропиконазол относится к веществам мало опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс – 1 517, $ЛД_{50}$ для мышей – 1 490 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для крыс > 4 000, $ЛД_{50}$ для кроликов > 6 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным по ингаляционной ($ЛД_{50}$ для крыс (4 часа) > 5 800 мг/м^3).

Область применения. Пропиконазол – системный фунгицид широкого спектра действия. Он обладает высокой активностью против возбудителей мучнистой росы, пятнистостей и ржавчины.

Применяется с нормой расхода 0,125 кг д.в./га в посевах зерновых культур, 0,125—0,375 кг д.в./га в маточниках и питомниках смородины черной.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,02 мг/кг массы человека;

ОДК в почве – 0,2 мг/кг;

ПДК в воздухе рабочей зоны – 0,5 мг/м^3;

ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,01 мг/м^3;

ПДК в воде водоема – 0,15 мг/дм^3;

МДУ (мг/кг): в зерне хлебных злаков, корнеплодах сахарной свеклы, зерне и масле рапса – 0,1; в ячмене – 0,2; в свекле столовой и ягодах (кроме клюквы) – 0,05; в клюкве – 0,3; винограде – 0,5.

МДУ в импортируемой продукции (мг/кг): зерно и масло кукурузы – 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 пропиконазола

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, %, $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Зеленая масса кукурузы	0,1—1,0 вкл.	25	1,87	5,20	7,28
Зерно кукурузы	0,02—0,04 вкл.	50	3,89	10,81	15,14
	0,1—0,2 вкл.	25	3,21	8,92	12,49
Масло кукурузы	0,02—0,04 вкл.	50	2,84	7,90	11,05
	0,1—0,2 вкл.	25	2,46	6,84	9,57

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для пропиконазола

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$; $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Зеленая масса кукурузы	0,1	0,1—1,0	85,32	1,60	0,64
Зерно кукурузы	0,02	0,02—0,2	79,11	3,34	1,24
Масло кукурузы	0,02	0,02—0,2	78,73	2,27	0,84

2. Метод измерения

Метод основан на определении пропиконазола методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием детектора по захвату электронов после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями на колонках с флоризилом и на концентрирующих патронах № 1.

Идентификация проводится по времени удерживания двух характерных пиков, а количественное определение – методом абсолютной калибровки по сумме двух характерных пиков.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается путем подбора капиллярной колонки и условий программирования температуры.

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 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 10 $мм^3$ со шкалой деления 0,1 $мм^3$ и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 %	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки; – 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 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Пропиконазол, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 96,4 %, ч	ГСО 7717
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
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
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с гидрофобным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм, с привитыми октильными (С8) группами (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 1)	ТУ 4215-002-05451931—94
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Флоризил (магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш	
Хлороформ, хч	ГОСТ 20015—88

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства, 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 $см^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81

Виалы (пузырьки) с тефлоновыми прокладками емкостью 40 $см^3$	
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 капиллярная из кварцевого стекла, с внутренний диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 5 % фенилсилоксана и 95 % метилсилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм	
Колонки хроматографические стеклянные или пластиковые длиной 150—250 мм и диаметром 15 мм	
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	
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
Центрифуга лабораторная настольная с максимальным рабочим числом оборотов 4 000 об./мин, с рабочим объемом ротора	

200 $см^3$ × 4 ячейки, выбираемый временной диапазон работы от 0 до 100 минут и с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$

Шприц инъекционный многократного применения объемом 10 $см^3$ ГОСТ 22967—90

Примечание. Допускается применение хроматографических колонок и другого 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 электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

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

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, 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 газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с флоризилом для очистки экстракта, подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с флоризилом и концентрирующих патронах № 1, 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, 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 ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцовокислый калий из расчета 100 мг/дм^3. Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. 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.

7.1.4. Очистка хлороформа. Хлороформ, 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 хлороформ сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Хлороформ перегоняют при температуре 61,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 61,2 °С, отбрасывают.

7.1.5. 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.

7.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией пропиконазола 1 $мг/см^3$. Взвешивают 50 мг пропиконазола в мерной колбе объемом 50 $см^3$. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией пропиконазола 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 ацетоном. Полученный стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранят в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией пропиконазола 1,0 $мкг/см^3$. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранят в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией пропиконазола 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 ацетоном. Стандартный раствор № 4 используется для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 4 хранят в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией пропиконазола 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

ацетоном. Стандартный раствор № 5 используется для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 5 хранят в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией пропиконазола 0,1 мкг/см³. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 6 используется для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 6 хранят в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.7. Стандартные растворы пропиконазола с концентрацией 10,0; 5,0; 2,0; 1,0; 0,4 и 0,2 мкг/см³ для внесения в контрольные образцы. Методом последовательного разведения ацетоном стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 10,0; 5,0; 2,0; 1,0; 0,4 и 0,2 мкг/см³ пропиконазола и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы. Стандартные растворы для внесения хранят в холодильнике не более одного месяца.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость суммы площадей двух характерных пиков от концентрации пропиконазола в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 мкг/см³.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения пропиконазола

7.4.1. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта. В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г флоризила с зернением 60/100 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. Колонку промывают 20 см³ ацетона и высушивают.

Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 см³ гексана.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения пропиконазола на колонке с флоризилом. В концентратор объемом 100 см³ вносят 1 см³ стандартного раствора пропиконазола в ацетоне с концентрацией 1,0 мкг/см³ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испа-

рителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу последовательно обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 6 и 5 порциями объемом 5 см^3 каждая смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 6. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 см^3 ацетона и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие пропиконазол, полноту смывания с колонки и необходимый объем элюента.

Изучение поведения пропиконазола на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии флоризила.

7.5. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения пропиконазола на них

7.5.1. Подготовка концентрирующего патрона № 1 для очистки экстракта. Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см^3/мин.

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 10 см^3 ацетона, а затем 10 см^3 воды. Элюаты отбрасывают.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения пропиконазола на концентрирующем патроне № 1. В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора пропиконазола в ацетоне 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 1 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 9 см^3 воды, перемешивают и наносят на подготовленный патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходный концентратор последовательно обмывают 10 см^3 смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 3 и 5 порциями объемом 5 см^3 каждая

смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 1. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие пропиконазол, полноту смывания с патрона и необходимый объем элюента.

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

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 ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма для животных. Отбор проб», ГОСТ 8808—2000 «Масло кукурузное, ТУ», ГОСТ 32190—13 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы зеленой массы кукурузы хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С до 2 лет.

Отобранные пробы зерна кукурузы подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы кукурузного масла хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 10 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Зеленая масса кукурузы

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Образец измельченной зеленой массы кукурузы массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$. Пропиконазол экстрагируют 70 $см^3$ ацетонитрила, помещая пробы на аппарат для встряхивания проб на 20 минут. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом

250 см^3 через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 см^3 ацетонитрила и помещая пробу на аппарат для встряхивания проб на 20 минут. Экстракты фильтруют и объединяют в делительной воронке объемом 250 см^3.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 40 см^3 гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний (гексановый) слой отбрасывают, а ацетонитрильный экстракт возвращают в делительную воронку и промывают еще одной порцией гексана объемом 40 см^3. Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Сухой остаток, полученный в п. 9.1.1, растворяют в 2 см^3 ацетона, обмывают стенки концентратора, затем прибавляют 50 см^3 дистиллированной воды, перемешивают содержимое в концентраторе и переносят в делительную воронку объемом 250 см^3. Пропиконазол экстрагируют тремя порциями хлороформа по 30 см^3, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 минуты. Хлороформ собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом. Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и полученный раствор наносят на подготовленную колонку. Исходную колбу последовательно обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1 и 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 6, элюаты отбрасывают. Пропиконазол элюируют с колонки 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 6, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.4. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1. Сухой остаток, полученный в п. 9.1.3, растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см^3 воды, перемешивают и наносят на заранее подготовленный патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 3 и наносят на патрон, элюат отбрасывают. Пропиконазол элюируют 15 см^3 смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 1. Элюат

собирают в концентратор объемом 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 10 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ вводят в хроматограф.

9.2. Зерно кукурузы

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Образец измельченного зерна кукурузы массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$. Пропиконазол экстрагируют 50 $см^3$ гексана, помещая пробы на аппарат для встряхивания проб на 30 минут. Затем пробу центрифугируют 5 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 $см^3$ через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 30 $см^3$ гексана и помещая каждый раз на 15 минут на аппарат для встряхивания проб. Пробы центрифугируют в течение 5 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Экстракты объединяют в делительной воронке объемом 250 $см^3$.

Из гексанового экстракта пропиконазол экстрагируют тремя порциями по 40 $см^3$ ацетонитрила, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний (ацетонитрильный) слой собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Гексан отбрасывают.

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

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и вводят в хроматограф 1 $мм^3$ пробы.

9.3. Масло кукурузы

9.3.1. Экстракция и очистка полученного экстракта в системе несмешивающихся растворителей. Из пробы кукурузного масла отбирают в стакан навеску массой 10 г и переносят ее в делительную воронку объемом 250 $см^3$ двумя порциями гексана объемом по 25 $см^3$. Пропиконазол экстрагируют тремя порциями по 50, 30 и 30 $см^3$ ацетонитрила, каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 минут. Гексановый слой

отбрасывают, а ацетонитрильный экстракт возвращают в чистую делительную воронку.

Ацетонитрильный экстракт промывают двумя порциями гексана объемом по 40 $см^3$. Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей» и по п. 9.1.4 «Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1».

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и вводят в хроматограф 1 $мм^3$ пробы.

9.4. Условия хроматографирования

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренний диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 5 % фенилсилоксана и 95 % метилсилоксана, и толщиной пленки 0,25 мкм.

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), в модификации с электронным управлением пневмонической системы (ЭУПС), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

– 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.

Температура детектора – 300 °С, поток обдува анода (азот) – 6,0 $см^3$/мин, поток поддува – 58,5 $см^3$/мин.

Температура испарителя – 270 °С, тип газа гелий, режим «сплит», давление 26,36 *psi*, деление потока 70 : 1, сплит-поток 105,0 $см^3$/мин.

Программированный нагрев колонки с 210 °С (выдержка 1 мин) по 2 град/мин до 230 °С и с 230 °С (выдержка 1 мин) по 10 град/мин до 260 °С (выдержка 1 мин), режим «постоянный поток», поток колонки 1,5 $см^3$/мин, средняя скорость 41 см/с.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,1—1,0 нг.

10. Обработка результатов анализа

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

Альтернативная обработка результатов

Содержание пропиконазола в пробах 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 пропиконазола в пробе, мг/кг;

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

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

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

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

m – масса анализируемого образца, г;

P – содержание пропиконазола 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:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ 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), %.

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

«*содержание вещества в пробе менее 0,02 мг/кг**».

* 0,02 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 пропиконазола проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 6 месяцев, при смене основного градуировочного раствора № 2 – каждый месяц, при смене основных градуировочных растворов № 3, 4, 5 и 6 – каждые 14 дней, а также в начале и конце каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание пропиконазола 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:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 2{,}67, \text{ где}$$

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

C – известная концентрация градуировочного раствора пропиконазола в ацетоне, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

2,67 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 2,67 %, 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 пропиконазола, 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:

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

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 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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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

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

Приложение 1

Полнота извлечения пропиконазола из зеленой массы, зерна и масла кукурузы (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Пропиконазол, мг/кг		Полнота определения, %
	внесено	обнаружено	
Зеленая масса кукурузы	0,1	0,0861 ± 0,0017	86,1
	0,2	0,1699 ± 0,0039	85,0
	0,5	0,4260 ± 0,0082	85,2
	1,0	0,8499 ± 0,0160	85,0
Зерно кукурузы	0,02	0,0158 ± 0,0008	78,9
	0,04	0,0325 ± 0,0009	81,4
	0,10	0,0791 ± 0,0021	79,1
	0,20	0,1542 ± 0,0062	77,1
Масло кукурузы	0,02	0,0159 ± 0,0006	79,3
	0,04	0,0315 ± 0,0010	78,8
	0,10	0,0785 ± 0,0017	78,5
	0,20	0,1566 ± 0,0048	78,3

Определение остаточных количеств пропиконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3368—16

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

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

Подписано в печать 25.01.16

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

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