Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания по методам контроля

Сборник
МУК 4.1.2593—10; 4.1.2595—10; 4.1.2673—10; 4.1.2674—10; 4.1.2680—2682—10; 4.1.2685—10; 4.1.2686—10; 4.1.2688—10; 4.1.2689—10; 4.1.2691—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
М54

М54 Методические указания по методам контроля: Сборник.— М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.—179 с.

ББК 51.21

© Роспотребнадзор, 2010
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

Содержание

Определение остаточных количеств Флурохлоридона в почве, семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2593—10 4

Определение остаточных количеств имидаклоприда в томатном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2595—10 21

Определение остаточных количеств дитианона в ботве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2673—10 35

Определение остаточных количеств бифентрина в семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2674—10 47

Определение остаточных количеств метазахлора в капусте методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2680—10 59

Определение остаточных количеств пиклорама в семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2681—10 71

Определение остаточных количеств тетраконазола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2682—10 87

Измерение концентраций топрамезона в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2685—10 101

Определение остаточных количеств Бета-цифлутрина в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2686—10.....115

Определение остаточных количеств азоксистробина в зеленой массе, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2688—10.....135

Определение остаточных количеств диметоморфа в ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2689—10.....149

Определение остаточных количеств ацетамиприда в семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2691—10 163

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств дитианона в ботве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

МУК 4.1.2673—10

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств дитианона в ботве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.—12 с.

1. Разработаны Всероссийским НИИ защиты растений (В. И. Долженко, И. А. Цибульская, И. К. Журкович, Н. В. Луговкина, Н. Г. Ковров).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 10.06.2010 № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 2 августа 2010 г.

4. Введены в действие с 1 октября 2010 г.

5. Введены впервые.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
02 августа 2010 г.
Дата введения: 1 октября 2010 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств дитианона в ботве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

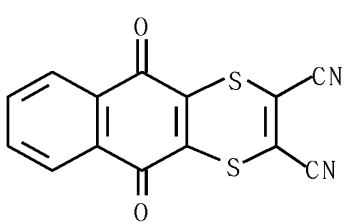
Методические указания МУК 4.1.2673—10

Настоящий документ устанавливает метод измерения массовой концентрации дитианона в ботве и клубнях картофеля в диапазоне концентраций 0,025—0,25 мг/кг.

Дитианон.

Название по номенклатуре ИЮПАК: 5,10-дигидро-5,10-диоксонафто[2,3-b]-1,4-дитиин-2,3-дикарбонитрил.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{14}H_4N_2O_2S_2$
Молекулярная масса: 296.3

Химически чистое вещество: коричневый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления: 225 °С.

Давление пара при 25 °С: 2,7 х 10^{-6} мПа.

K_{OW}logP = 3,2.

Растворимость в воде (20 °С, pH 7)—0,14 мг/л; хлороформе—12 г/л; ацетоне – 10 г/л; бензоле – 8 г/л; ацетонитриле – 5 г/л. Умеренно растворим в метаноле и дихлорметане. Разлагается как в щелочной среде, так и под действием концентрированных кислот, а также при длительном нагревании; $ДТ_{50}$ 12,2 часа (pH 7, 25 °С). Чувствителен к воздействию солнечного света. $ДТ_{50}$ составляет 19 часов для водного раствора с концентрацией 0,1 мг/мл.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая оральная токсичность $ЛД_{50}$ 678 мг/кг для крыс и 115 мг/кг для морских свинок. Обладает слабым раздражающим действием на глаза и кожу. При подкожном введении $ЛД_{50}$ для крыс составляет > 2000 мг/кг. Ингаляционная токсичность для крыс—2,1 мг/л воздуха (период наблюдения 4 часа).

Гигиенические нормативы: МДУ для картофеля не установлен.

Область применения препарата: лиственный фунгицид защитного и отчасти целебного действия. Используется для контроля многих заболеваний листьев, включая паршу на фруктовых деревьях; ржавчину и скручивание листьев у абрикосов и персиков, образование пятен на листьях смородины и т. д. Эффективен против возбудителей болезней *Stigmana carpophila, Coccomyces hiemalis, manlia, Didimella applanata, Mycosphaerella fragariae* и др.

1. Методика определения дитианона в ботве и клубнях картофеля методом ВЭЖХ

1.1. Основные положения

1.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении дитианона методом ВЭЖХ с использованием УФ-детектора после его извлечения из образцов ботвы или клубней ацетонитрилом в присутствии ацетатного буфера, насыщенного сульфатом магния, и обеспечивающего разделение водной и органической фаз и очистки ацетонитрильного экстракта силикагелем с помощью дисперсионной твердофазной экстракции при одновременном удалении воды безводным сульфатом магния.

Учитывая чувствительность препарата к нагреванию и воздействию УФ-лучей для пробоподготовки выбран экспрессный метод, исключающий нагревание образца или его длительные экспозиции на свету.

1.1.2. Метрологические характеристики

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 таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ± δ, %	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Клубни картофеля	0,025—0,100	50	3,4	9,5	14,8
	0,100—0,250	25	2,75	7,7	11,9
Ботва картофеля	0,025—0,100	50	5,1	14,2	22,0
	0,100—0,250	25	2,5	7,1	11,0

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для полного диапазона концентраций (n = 20) приведены в таблице 2.

Таблица 2

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

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Клубни картофеля	0,025	0,025—0,250	85,2	4,9	4,45
Ботва картофеля	0,025	0,025—0,250	89,5	3,9	3,55

1.1.3. Избирательность метода

Избирательность метода определения дитианона достигается условиями подготовки проб и хроматографического анализа.

2.1. Реактивы и материалы

Ацетонитрил для ВЭЖХ, «В-200нм», сорт 5 или хч	ТУ 6-09-3534—87
Натрий уксуснокислый, ч	ГОСТ 199—68
Уксусная кислота, ледяная	ГОСТ 61—69
Магний сернокислый 7-водный, хч	ГОСТ 4523—67
Силикагель, Merck 1.09385.1000	
Бумажные фильтры «красная лента»	ТУ 6.091678—86
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ 6709—79
Дитианон, аналитический стандарт с содержанием д.в. 98.6 %, BAS 216F	
Кислота ортофосфорная, 0,005 М водный раствор, хч	ГОСТ 6552—80
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрила и 0,005 М H_3PO_4 в соотношении 50 : 50	

Допускается использование реактивов квалификацией не ниже указанных.

2.2. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф «ACQUITY» фирмы «Waters» с быстросканирующим УФ детектором, снабженном дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки или «Breeze» фирмы «Waters» или аналогичный	
Аналитическая колонка ACQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2,1) мм, 1,7 мкм (Waters)	
Весы аналитические ВЛА-200 или аналогичные	ГОСТ 24104—2001
Центрифуга ОПн-8УХЛ4.2	ТУ 5.375-4261—76
Бидистиллятор	
Шприц медицинский с разъемом Льюера	ГОСТ 22090
Воронки лабораторные В-75-110	ГОСТ 25336—82
Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$	ГОСТ 22292—74
Микродозаторы Ленпипет переменного объема от 200 до 1000 $мм^3$ и от 1 до 5 $см^3$	
Аппарат для встряхивания (Chirana)	

Допускается использование приборов и посуды с метрологическими характеристиками не ниже указанных.

2.3. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ 26832—86 «Картофель свежий для переработки на продукты питания». Пробы клубней и ботвы картофеля для определения остатков в урожае хранят в морозильной камере при –18 °С.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Подготовка и очистка реактивов и 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 в соответствии с типовыми методиками.

2.4.2. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа аналитические колонки кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,1—0,2 мл/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1 часа.

2.4.3. Приготовление растворов

Для приготовления 0,005 М раствора ортофосфорной кислоты 0,5 г 98 % ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Точную навеску дитианона (50 мг) помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$, растворяют в ацетонитриле и доводят до метки. (Стандартный раствор с концентрацией 0,5 мг/$см^3$). Градуировочные растворы с концентрациями 0,025, 0,050, 0,100, 0,200 и 0,250 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы. Основной и рабочие градуировочные растворы используют свежеприготовленными. При изучении полноты извлечения дитианона из картофеля используют ацетонитрильные растворы вещества.

2.4.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация дитианона в растворе) в хроматограф вводят по 10 $мм^3$ градуиро-

вочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации дитианона в градуировочном растворе.

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

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

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

C – аттестованное значение массовой концентрации бифентрина в градуировочном растворе;

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

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

2.4.5. Подготовка приборов и средств измерения

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения проводится в соответствии с требованиями технической документации.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Определение дитианона в клубнях картофеля

10 г измельченных клубней картофеля помещают в тефлоновую центрифужную пробирку вместимостью 50 см^3, прибавляют 2 см^3 воды, 8 см^3 ацетонитрила, 0,1 см^3 ледяной уксусной кислоты, 4 г безводного сульфата магния и 1 г уксуснокислого натрия. Пробирку плотно закрывают пробкой, встряхивают на аппарате в течение 15 мин и центрифугируют при скорости 8000 об/мин в течение 10 мин. Измеряют объем супернатанта и количественно переносят его в другую тефлоновую центрифужную пробирку. Прибавляют силикагель и безводный сульфат магния из расчета 50 мг силикагеля и 150 мг сульфата магния на 1 см^3 супернатанта. Пробирку плотно закрывают пробкой, встряхивают на аппарате в течение 15 мин и центрифугируют при скорости 8000 об/мин в течение 10 мин. Количественно отбирают с помощью шприца верхний

ацетонитрильный слой, переносят его в мерную колбу вместимостью 10 см^3 и доводят объем до метки 0,005 М фосфорной кислотой. 10 мм^3 полученного раствора вводят в хроматограф.

2.5.2. Определение дитианона в ботве картофеля

10 г измельченной ботвы картофеля помещают в тефлоновую центрифужную пробирку вместимостью 50 см^3, прибавляют 10 см^3 ацетонитрила, 0,1 см^3 ледяной уксусной кислоты, 4 г безводного сульфата магния и 1 г уксуснокислого натрия. Дальнейшую обработку пробы производят по п. 2.5.1.

2.5.3. Условия хроматографирования

Ультраэффективный жидкостной хроматограф «ACQUITY» фирмы Waters с быстросканирующим УФ детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка ACQUITY UPLC BEH C18 (2,1 x 100) мм, 1,7 мкм (Waters). Температура колонки 30 ± 1 °С. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50. Скорость потока элюента: 0,2 см^3/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 235 нм. Объем вводимой пробы 10 мм^3. Время удерживания дитианона составляет 6,3 ± 0,1 мин.

3. Обработка результатов анализа

Содержание дитианона в образцах клубней и ботвы картофеля (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P}, \text{ где}$$

S_1 – площадь пика дитианона в стандартном растворе, (мВ·сек);

S_2 – площадь пика дитианона в анализируемой пробе, (мВ·сек);

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

P – навеска анализируемого образца, г;

C – концентрация стандартного раствора дитианона, мкг/см^3.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор дитианона 1 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

4. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости(1):

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

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.

5. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta \cdot X / 100,$$

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

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 0,005 мг/кг*, где *-0,005 мг/кг – предел обнаружения).

6. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

6.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

$$\Delta_{л} = \pm 0.84\ \Delta,$$

где Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

$$\Delta = \delta \cdot X / 100,$$

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = X' - X - C_д,$$

где X', X, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 4) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля К рассчитывают по формуле:

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

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($К_к$) с нормативом контроля (К).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$| К_к | \le К, \qquad (2)$$

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.

6.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

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

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

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

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

7. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005—88).

При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкциями по эксплуатации приборов.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91.

8. Требования к квалификации оператора

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации жидкостного хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 6.

9. Разработчики

Долженко В. И., Цибульская И. А., Журкович И. К., Луговкина Н. В., Ковров Н. Г.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург.

gost.e-ecolog.ru