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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник
МУК 4.1.2777—4.1.2786—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—179 с.

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флуазинама в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2780—10

1. Разработаны сотрудниками ГНУ Всероссийского НИИ защиты растений (В. И. Долженко, И. А. Цибульская, А. С. Комарова).

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 14.10.2010 № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 24 ноября 2010 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

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
24 ноября 2010 г.
Дата введения: с момента утверждения.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флуазинама в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.2780—10

1. Общие положения

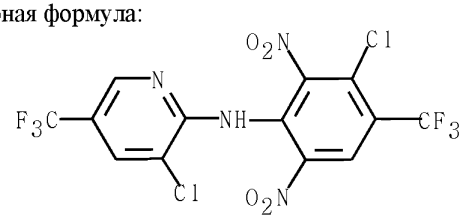
Свидетельство об аттестации методики № 01.5.04.682 от 25.06.2010.

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соке массовой концентрации флуазинама в диапазоне концентраций 0,01—0,1 мг/кг.

Название действующего вещества по ICO: Флуазинам

Название по IUPAC: 3-хлор-*N*-(2-пиридил-5-трифторметил-3-хлор)-α,α,α-трифтор-2,6-динитро-*n*-толуидин

Структурная формула:



Мол. масса: 465.1

Брутто формула: $C_{14}H_4Cl_2F_6N_4O_4$.

Химически чистый флуазинам представляет собой желтоватые кристаллы с $T_{пл}$ 115—117 °С, давление паров 7,5 мПа.

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} log$P$ = = 4,1 (pH 7, 22 °С).

Растворимость: в воде 0,135 мг/дм^3 (pH 7, 20 °С); н-гексан – 12, ацетон – 470, толуол – 410, диэтиловый эфир – 320, дихлорметан – 330, этанол – 150, все в г/дм^3 (20 °С).

Стабилен в кислой и щелочной средах, термостабилен. В почве $T_{0.5}$ – 33—62 дня.

$ЛД_{50}$ для крыс > 5 000 мг/кг.

Область применения: фунгицид защитного действия, проявляет куративную и системную активность, обладает длительным остаточным эффектом. Используется против серой гнили на винограде и яблонях. Обладает акарицидной активностью, применяется для борьбы с клещами на яблоне

Гигиенические нормативы для флуазинама в яблоках и винограде в России не установлены.

2. Методика определения флуазинама в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении флуазинама методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием электронозахватного детектора после его извлечения из образцов органическим растворителем, очистке путем перераспределения между двумя жидкими фазами и дополнительной очистке на патроне с силикагелем. Идентификация флуазинама проводится по времени удерживания, количественное определение – методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода

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.

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{Rл}$, %	Показатель воспроизводимости, σ_R, %	Показатель точности* (границы относительной погрешности), ±δ, %
Виноград	0,01—0,10	4	5	10	20
Виноградный сок	0,01—0,10	6,5	8	8	15
Яблоки	0,01—0,10	4	5	10	20
Яблочный сок	0,01—0,1	4.7	5,2	10	18
* соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$					

Таблица 2

Полнота извлечения флуазинама, 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, ±, %
Виноград	0,01	0,01—0,1	82	9,9	12,0
Виноградный сок	0,01	0,01—0,1	87	7,8	9,4
Яблоки	0,01	0,01—0,1	86	8,7	10,5
Яблочный сок	0,01	0,01—0,1	91	7.7	9,3

2.1.3. Избирательность метода

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

3. Средства измерения, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерения

Весы аналитические ВЛА-200 ГОСТ 24104—2001
Весы технические ВЛКТ-500 ГОСТ 24104—2001

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» ДЭЗ	
Колбы мерные на 25, 50, 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микрошприц МШ-10, МШ-10М	ТУ 2-833-106
Пипетки градуированные	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные на 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—82
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан, ч, свежеперегнанный	ТУ6-09-3375—78
Натрий сернокислый безводный, чда, свежепрокаленный	ГОСТ 4166—76
Соляная кислота, хч	ГОСТ 3117—77
Флуазианам с содержанием основного компонента 98,9 %	
Этилацетат, хч	ГОСТ 22300—76
Элюент № 1 – этилацетат–гексан (9 : 1 по объему)	

Допускается использование реактивов квалификацией не ниже указанных.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Ванна ультразвуковая УЗВ/100 ТН	
Воронки лабораторные В-75-110	ГОСТ 25336—82
Воронки делительные ВД-3-500	ГОСТ 8613—75
Капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32мм с неподвижной фазой НР-1, толщина слоя 0,25 мкм	
Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29/32 ТС	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные на шлифах КШ100 29/32 ТС	ГОСТ 25336—82Е
Концентрирующие патроны ДИАПАК СИЛИКАГЕЛЬ	
Пробирки с притертыми пробками на 5, 10 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Ротационный вакуумный испаритель Büchi R-200/205 (Швейцария)	
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6.091678—86

Допускается использование другого вспомогательного оборудования с техническими характеристиками не хуже указанных.

4. Требования безопасности

4.1. При проведении работы необходимо соблюдать правила техники безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1.005, ГОСТ 12.1.007). Организация обучения работников безопасности труда (ГОСТ 12.0.004).

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

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности (ГОСТ 12.1.004) и иметь средства пожаротушения (ГОСТ 12.4.009). Содержание вредных веществ в воздухе лабораторного помещения не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

5. Требования к квалификации операторов

Измерения может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом капиллярной газожидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации газового хроматографа, освоивший данный метод и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерения

При выполнении измерения выполняют следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха лабораторного помещения (20 ± 5) °С и относительной влажности воздуха не более 80 %,
- выполнение измерения на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

7.1. Кондиционирование колонки

Капиллярную колонку перед анализом кондиционируют в токе азота при температуре 250 °С до установления нулевой линии.

7.2. Приготовление рабочих растворов

1М раствор HCl.

К 500 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе на 1 дм^3 добавляют 100 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят до метки водой.

0,2М раствор HCl.

К 500 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе на 1 дм^3 добавляют 20 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят до метки водой.

7.3. Приготовление градуировочных растворов

Точную навеску флуазинама (0,010 г) помещают в мерную колбу объемом 100 см^3, растворяют в гексане, доводят до метки и получают основной раствор с концентрацией 100 мкм/мл.

Градуировочные растворы с концентрациями 1,0, 0,5, 0,25, 0,1, 0,05 мкг/см^3 готовят из стандартного раствора методом последовательного разбавления гексаном по объему. Для приготовления раствора с концентрацией 1,0 мкг/см^3 в мерную колбу на 100 см^3 вносят 1 см^3 основного раствора и доводят до метки гексаном. Для получения градуировочных растворов с концентрациями 0,5, 0,25, 0,1, 0,05 мкг/см^3 разбавляют предыдущий раствор (1 мкг/см^3) в 2, 4, 10 и 20 раз. Градуировочные растворы хранят в холодильнике не больше одной недели.

При определении полноты извлечения для внесения в образцы используют растворы флуазинама в ацетоне.

7.4. Построение градуировочной характеристики

Для построения градуировочного графика в хроматограф вводят по 1 мм^3 каждого из градуировочных растворов (3 параллельных определения для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют высоты или площади пиков и строят график зависимости среднего значения высоты или площади пика от концентрации флуазинама в градуировочном растворе (мкг/см^3).

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 флуазинама в градуировочном растворе;

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

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

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб винограда производят в соответствии с ГОСТ 25896—83 «Виноград свежий столовый. Технические условия». Пробы ягод винограда хранят до анализа в герметично закрытом двойном полиэтиленовом пакете в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение 6 месяцев. Отбор проб яблок производят в соответствии с ГОСТ 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки»; Пробы виноградного и яблочного сока хранят до анализа в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение месяца, в холодильнике при температуре 0—4 °С в стеклянной таре с притертой пробкой в течение недели.

9. Проведение определения

9.1.1. Определение флуазинама в яблоках и ягодах винограда

Навеску измельченных яблок или ягод винограда 20 г помещают в коническую колбу, заливают 50 см^3 смеси ацетон/соляная кислота 1М (3 : 1) и экстрагируют флуазинам в ультразвуковой ванне в течение 10 мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», остаток с фильтра переносят обратно в колбу и экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 30 см^3 75 %-го водного ацетона. От объединенного фильтрата берут аликвоту 1/4, соответствующую 5 г навески, и упаривают её на ротационном испарителе до водного остатка при температуре не выше 40 °С. К остатку добавляют 100 см^3 0,2М раствора соляной кислоты и переносят в делительную воронку. Флуазинам трижды экстрагируют гексаном по 30 см^3. После разделения фаз органический слой собирают в круглодонную колбу, фильтруя через слой безводного сульфата натрия (10 г). Гексан упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток очищают на патроне с силикагелем (п. 9.2).

9.1.2. Определение флуазинама в яблочном и виноградном соках

К 5 г сока добавляют 100 см^3 0,2М раствора соляной кислоты и переносят в делительную воронку. Флуазинам трижды экстрагируют гексаном по 30 см^3. После разделения фаз органический слой собирают в круглодонную колбу, фильтруя через слой безводного сульфата натрия (10 г). Гексан упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток очищают на патроне с силикагелем (п. 9.2).

9.2. Очистка проб на патронах с силикагелем

Очистку проводят на концентрирующем патроне ДИАПАК СИЛИКАГЕЛЬ. Патрон промывают 3 $см^3$ гексана.

Сухой остаток, полученный при упаривании очищенных по п. 9.1 экстрактов, количественно переносят тремя порциями по 1$см^3$ гексана в патрон. Патрон промывают 3 $см^3$ гексана. Фильтрат отбрасывают. Флуазинам элюируют 5 $см^3$ элюента № 1 (гексан–этилацетат, 9 : 1), собирают элюат в грушевидную колбу и упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ вводят в испаритель хроматографа.

9.3. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ДЭЗ; колонка кварцевая капиллярная, длина 30 м, диаметр 0,32 мм с неподвижной фазой НР-1 (0,25 мкм); температура термостата колонки 180 °С; температура испарителя 260 °С, температура детектора 300 °С; газ-носитель – азот, расход газа-носителя 52,5 $см^3$/мин (давление 90 кПа), сброс пробы – 50 $см^3$/мин, поддув в ДЭЗ – 30 $см^3$/мин, деление потока 1 : 20; хроматографируемый объем 1 $мм^3$, анализируемый объем 1 $см^3$.

Время удерживания флуазинама 8 мин (45 ± 5) с.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение флуазинама проводят методом абсолютной калибровки, содержание в пробе вычисляют по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot C \cdot V}{H_1 \cdot P}, \text{ где}$$

X – содержание флуазинама в пробе, мг/кг;

H_2 – высота (площадь) пика анализируемого вещества, мм ($мм^2$);

H_1 – высота (площадь) пика стандартного вещества, мм ($мм^2$);

C – концентрация стандартного раствора флуазинама, мкг/$см^3$;

V – объём экстракта, подготовленного для хроматографирования, $см^3$;

P – масса (г) аналитической пробы.

Содержание остаточных количеств флуазинама в анализируемом образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений. При получении зашкаленных пиков анализируемый экстракт разбавляют гексаном.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

$\overline{X}$ – 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 0,01 мг/кг», где * – 0,01 мг/кг – предел обнаружения флуазинама в анализируемых объектах.

13. 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».

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = X' - X - C_д, \text{ где}$$

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le \text{К} \qquad (2)$$

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.

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

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

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

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

Приложение
Таблица

Полнота определения дифеноконазола в модельных матрицах (*n* = 5)

Матрица	Внесено дифеноконазола мг/кг	Открыто дифеноконазола, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Зеленая масса	0,05	83,4	± 3,7
	0,10	84,6	± 2,5
	0,25	85,6	± 2,3
	0,50	87,6	± 2,1
Семена	0,02	84,0	± 3,7
	0,04	84,4	± 3,0
	0,10	85,4	± 2,5
	0,20	88,2	± 2,2
Масло	0,05	82,8	± 2,7
	0,10	83,6	± 2,5
	0,25	85,4	± 2,2
	0,50	87,0	± 2,3

Содержание

Определение остаточных количеств Фамоксадона в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2777—10 3

Определение остаточных количеств Цимоксанила в луке-перо и луке-репке методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2778—10 23

Определение остаточных количеств Пикоксистробина в воде, почве, зерне и соломе зерновых культур, зеленой массе и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2779—10 41

Определение остаточных количеств флуазинама в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии МУК 4.1.2780—10 67

Определение остаточных количеств напропамида в семенах и масле рапса и плодах томатов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2781—10 79

Определение остаточных количеств карбендазима в зерне гороха и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2782—10 93

Определение остаточных количеств метрафенона в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых культур, ягодах и соке винограда методом ВЭЖХ: МУК 4.1.2783—10 107

Определение остаточных количеств дифеноконазола в ягодах и соке винограда методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2784—10 121

Определение остаточных количеств паклобутразола в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2785—10 139

Определение остаточных количеств дифеноконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2786—10 159

gost.e-ecolog.ru