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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств действующих веществ пестицидов в растительном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2983—4.1.2985—12; 4.1.2987—12; 4.1.2991—12; 4.1.3001—12; 4.1.3003—12; 4.1.3005—12

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств действующих веществ пестицидов в растительном сырье и пищевых продуктах: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.—140 с.

1. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22.12.2012 № 2).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 19 марта 2012 г.

3. Введены в действие с момента утверждения.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Редакторы Н. Е. Акопова, Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 31.10.12

Формат 60x88/16 Печ. л. 8,75

Тираж 200 экз. Заказ 55

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
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2012
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012

Содержание

Определение остаточных количеств пираклостробина в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, в семенах и масле сои, подсолнечника и рапса, в плодах томатов и огурцов, томатном соке, корнеплодах моркови, луке-репке, капусте и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2983—12 4

Определение остаточных количеств римсульфурона в томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2984—12 36

Определение остаточных количеств ацетамиприда в плодах и соке яблок методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2985—12 47

Определение остаточных количеств тиаклоприда в зеленой массе, семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2987—12 59

Определение остаточных количеств флудиоксонила в томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2991—12 72

Определение остаточных количеств спиротетрамата и его основного метаболита спиротетрамата-енола в цитрусовых культурах (апельсин, мандарин, лимон, лайм, грейпфрут, клементин), плодовых семечковых (яблоня, груша), плодовых косточковых (персик, нектарин, абрикос), овощных культурах (томаты, перец, огурцы), хмеле, винограде и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3001—12 86

Определение остаточных количеств фенгексамида в ягодах (клубника, киви), томатах, огурцах, винограде и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3003—12 108

Определение остаточных количеств хлорантранилипрола в капусте (кочанная капуста, брокколи, цветная капуста), баклажанах, цитрусовых культурах (апельсины, лимоны, грейпфруты, мандарины и др.), салате, изюме методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3005—12 124

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
19 марта 2012 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фенгексамида в ягодах (клубника, киви), томатах, огурцах, винограде и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3003—12

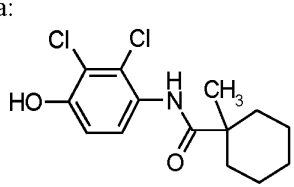
Свидетельство о метрологической аттестации от 16.08.2011 № 0100.15.08.11.

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовых концентраций фенгексамида в ягодах (клубнике, киви), томатах, огурцах, винограде, виноградном соке в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Название действующего вещества по ИСО: фенгексамид.

Название действующего вещества по ИЮПАК: N-(2,6-Дихлор-4-гидроксифенил)-1-метилциклогексанкарбоксамид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{14}H_{17}Cl_2NO_2$.

Молекулярная масса: 302,22.

Порошок белого цвета со слабым характерным запахом. Температура плавления 153 °С. Плотность 1,34 г/см^3 (20 °С). Давление паров

$2,29 \times 10^{-10}$ мбар (20 °С); $6,43 \times 10^{-10}$ мбар (25 °С). Растворимость в органических растворителях при 20 °С (в г/дм^3): ацетон – 160; ацетонитрил – 15; изопропанол – 91; толуол – 5,7; н-гексан – < 0,1. Растворимость в воде при 20 °С (в г/дм^3): 0,022 (pH 3,9), 0,038 (pH 7). Коэффициент распределения н-октанол/вода K_{ow} logP 3,62 (pH 4); 3,51 (pH 7); 2,23 (pH 9). Гидролитически стабилен в течение 30 дней при pH 5, 7, 9 (25 °С).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 5 057 мг/м^3 (4 ч).

Область применения

Фенгексамид – фунгицид защитного действия класса гидроксианилидов, рекомендуемый для применения на винограде, ягодных, плодовых косточковых, цитрусовых, овощных культурах и др.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и её 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 (граница относительной погрешности), ±δ, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Ягоды (клубника)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,5	13	18
Томаты	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,6	13	18
Огурцы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,5	13	18
Виноград	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,1	12	17
Виноградный сок	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,8	11	15

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений (n = 20) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Ягоды (клубника)	0,01	0,01—0,1	86,73	3,65	1,94
Томаты	0,01	0,01—0,1	87,04	3,85	2,05
Огурцы	0,01	0,01—0,1	87,77	3,73	1,99
Виноград	0,01	0,01—0,1	86,94	3,44	1,83
Виноградный сок	0,01	0,01—0,1	89,27	3,40	1,81

2. Метод измерений

Метод основан на определении фенгексамида с использованием обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после извлечения вещества из анализируемых образцов ацетоном, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны фирмы «Agilent»	Номер Госреестра 16193—06
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—01
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ 24104—01
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-500-2, 2-1 000-2	ГОСТ 1770—74

Меры массы	ГОСТ 7328—01
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Фенгексамид, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 98,7 % (CAS No. 126833-17-8)	
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан (гексан), для ВЭЖХ	ТУ 6-09-06-657—84
Калий марганцово-кислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид кальция), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота ортофосфорная, хч, 85 %	ГОСТ 6552—80
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Натрий серно-кислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
Силикагель, для колоночной хроматографии (0,200—0,500 мм, 40 А) фирмы «Acros organics» или аналогичный	
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов иных производителей с более высокой квалификацией, не требующих выполнения п. 7.1 (очистка растворителей).

3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства и материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Барометр-анероид с диапазоном измерений от 79,5 до 106,5 и ценой деления 0,1 кПа, типа М-98	ТУ 25-11-1316—76
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронка делительная вместимостью 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные типа В-36-80 ХС и В-56-80 ХС	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %, типа ВИТ-2	ТУ 25-11-1645—84
Гомогенизатор	
Груша резиновая	ТУ 9398-05-0576-9082—03
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы конические (плоскодонные) вместимостью 100, 400—500 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 25, 150, 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка стеклянная для препаративной хроматографии, длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Мембранные фильтры микропористые, марки ММК, капроновые, диаметром 50 мм, размер пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—03
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Стаканы химические, вместимостью 100, 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82

Стекловата	
Стеклянные палочки	
Термометр с диапазоном измерений от 0 °С до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая колонка стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Eclipse XDB C18, зернение 5 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—100 мм^3	

Примечание. Допускается использование других вспомогательных средств измерений и устройств аналогичного назначения и иных производителей, технические характеристики которых не уступают указанным, а также материалов, обеспечивающих нормативы точности при проведении измерений.

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—2009, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный 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 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

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе, освоивших данную методику и подтвердивших экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;

• выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, раствора внесения, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения фенгексамида на ней.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм^3 ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм^3 ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.1.3. н-Гексан

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.4. Хлористый метилен и этилацетат

7.1.4.1. Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %. Навеску (25 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3, растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

7.1.4.2. Очистка растворителей. Каждый растворитель промывают последовательно 5 %-м водным раствором натрия углекислого, насы-

щенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

7.2.1. Приготовление раствора ортофосфорной кислоты с массовой долей 0,2 % (0,2 %-й раствор). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 250—300 см^3 бидистиллированной воды, вносят 1 см^3 ортофосфорной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

7.2.2. Приготовление подвижной фазы. В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, вносят 500 см^3 0,2 %-го раствора ортофосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2) при скорости подачи растворителя 0,8 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление градуировочных растворов

7.4.1. Исходный раствор фенгексамида для градуировки (концентрация 250 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,025 г фенгексамида, растворяют в 50—70 см^3 ацетонитрила, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 3 месяцев.

Градуировочные растворы № 2—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора.

7.4.2. Раствор № 1 фенгексамида для градуировки и внесения (концентрация 25 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10,0 см^3 исходного раствора фенгексамида с концентрацией 250 мкг/см^3 (п. 7.4.1), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике при 4—6 °С в течение 3 месяцев.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено–найдено».

7.4.3. Рабочие растворы № 2—5 фенгексамида для градуировки (концентрация 0,25—2,5 мкг/см^3)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0; 2,0; 4,0 и 10,0 см^3 раствора № 1 фенгексамида с концентрацией 25 мкг/см^3 (п. 7.4.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией фенгексамида 0,25; 0,5; 1,0 и 2,5 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике при 4—6 °С в течение месяца.

7.5. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площадей пиков (мЕА · с) от концентрации фенгексамида в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки № 2—5.

В инжектор хроматографа вводят 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений.

7.6. Приготовление смесей гексан-этилацетат для очистки экстрактов на колонке с силикагелем

7.6.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 80 см^3 гексана и 20 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.6.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 7 : 3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 70 см^3 гексана и 30 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.7. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля в 30 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, затем 8 : 2, порциями по 30 см^3, скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду. Колонка готова к работе.

7.8. Проверка хроматографического поведения фенгексамида на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 фенгексамида с концентрацией 25 мкг/см^3 (п. 7.4.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая на ультразвуковую баню на 40—60 с, и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.7. Колбу обмывают дважды этой же смесью растворителей порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 25 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, элюат отбрасывают.

Затем колонку промывают 70 см^3 смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ, анализируют содержание фенгексамида по п. 9.3.

Фракции, содержащие фенгексамид, объединяют и вновь анализируют.

Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

Примечание. Проверку хроматографического поведения фенгексамида следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ 6828—89 «Земляника свежая. Требования при заготовках, поставках и реализации»; ГОСТ Р 53589—2009 «Киви, реализуемые в розничной торговле. Технические условия»; ГОСТ 1725—85 «Томаты свежие. Технические условия»; ГОСТ Р 51810—2001 «Томаты свежие, реализуемые в розничной торговой сети. Технические условия»; ГОСТ 1726—85 «Огурцы свежие. Технические условия»; 25896—83 «Виноград свежий столовый. Технические условия», 28472—90 «Виноград свежий ручной уборки для консервирования. Требования при заготовках и поставках»; 26313—84 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб»; «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (от 21.08.79 № 2051—79).

Отобранные пробы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Перед анализом образцы ягод, томатов, огурцов, винограда измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Ягоды, томаты, огурцы, виноград

9.1.1. Экстракция

Образец измельченных проб массой 50 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 400—500 $см^3$, добавляют 250 $см^3$ ацетона, интенсивно встряхивают (или гомогенизируют) в течение 1 мин, затем помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин.

Пробам дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр «красная лента». Растительный остаток повторно экстрагируют 100 $см^3$ ацетона при встряхивании в течение 30 мин, раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в колбу для упаривания на 500 $см^3$ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до водного остатка (объем 25—35 $см^3$). Очищают перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.1.2, затем на колонке с силикагелем по п. 9.1.3.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водный остаток в колбе, полученный по пп. 9.1.1 или 9.2.1, переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, колбу дополнительно обмывают 100 $см^3$ деионизованной воды, которую также переносят в воронку, вносят 30 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают. Затем в воронку вносят 40 $см^3$ дихлорметана, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой переносят в коническую колбу на 250—300 $см^3$. Экстракцию фенгексамида повторяют еще дважды порциями дихлорметана объемом 30 $см^3$. Объединенный дихлорметановый экстракт фильтруют через слой (около 2 см) безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусную воронку, в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 $см^3$, упаривают досуха и дополнительно очищают на колонке с силикагелем по п. 9.1.3.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Остаток, полученный по п. 9.1.2, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 5 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая на ультразвуковую баню на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.7. Колбу обмывают дважды смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 25 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, элюат отбрасывают.

Фенгексамид элюируют с колонки 50 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3 со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С, остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы и анализируют содержание фенгексамида по п. 9.3.

9.2. Виноградный сок

9.2.1. Экстракция

Пробу сока массой 50 г помещают в коническую колбу на 250—300 см^3, добавляют 100 см^3 ацетона, интенсивно встряхивают (или гомогенизируют) в течение 1 мин, затем помещают на 30 мин в холодильник (4—6 °С).

Выпавший осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр «красная лента», фильтр с осадком дополнительно промывают 20 см^3 ацетона. Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в колбу для упаривания на 250 см^3 и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до водного остатка (объем 25—35 см^3). Очищают перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.1.2, затем на колонке с силикагелем по п. 9.1.3.

9.3. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны.

Рабочие длины волн: 246 и 289 нм*.

Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Eclipse XDB C18, зернение 5 мкм.

Температура колонки: 25 °С.

---

* Хроматографирование пробы при двух длинах волн повышает надежность идентификации.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,2 % ортофосфорная кислота (50 : 50, по объему).

Скорость потока элюента: 0,8 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Ориентировочное время выхода фенгексамида: 11,210—11,425 мин.

Линейный диапазон детектирования 5—50 нг.

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков вещества (мЕА · с), находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию фенгексамида в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2, не более, чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание фенгексамида в пробе (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V}{m}, \text{ где}$$

C – концентрация фенгексамида, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/$см^3$;

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

m – масса анализируемого образца, г.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«*содержание фенгексамида в пробе менее 0,01 мг/кг*»*.

* – *0,01 мг/кг – предел обнаружения*.

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».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

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

$$A = \frac{(\bar{O} - \tilde{N}) \cdot 100}{\tilde{N}} \leq 2{,}26, \text{ где}$$

X – концентрация фенгексамида в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

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

2,26 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 2,26 %, 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 фенгексамида, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.5.

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$\tilde{N}_a \text{ i } D_{\ddot{e},\bar{O}} + D_{\ddot{e},\bar{O}\check{y}}, \text{ где}$$

$\pm D_{\ddot{e},\bar{O}}$ ($\pm D_{\ddot{e},\bar{O}\check{y}}$) – 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:

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

$\delta\urcorner$ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{O}\check{y} - \bar{O} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{O}\check{y}$, $\bar{O}$, $C_д$ – 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:

$$\hat{E} = \sqrt{D^2_{\ddot{e},\bar{O}\check{y}} + D^2_{\ddot{e},\bar{O}}}$$

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 предел воспроизводимости (R):

$$\frac{2 \cdot |\tilde{O}_1 - \tilde{O}_2| \cdot 100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \le R, \text{ где} \qquad (3)$$

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

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

14. Разработчики

Ракитский В. Н., Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н., Мухина Л. П. (ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора).

gost.e-ecolog.ru