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 римсульфурона в томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

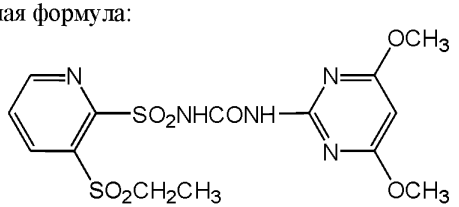
Методические указания МУК 4.1.2984—12

Свидетельство о метрологической аттестации от 25.07.2011 № 01.5.04.015/01.00043/2011.

Настоящий документ устанавливает методику определения остаточных количеств римсульфурона в томатах в диапазоне концентраций 0,01—0,1 мг/кг.

Название действующего вещества по ИСО: римсульфурон.

Структурная формула:



Название действующего вещества по ИЮПАК: 1-(4,6-диметоксипиримидин-2-ил)-3-(этилсульфонил-2-пиридинсульфонил) мочевина.

Молекулярная масса: 431,4.

Эмпирическая формула: $C_{14}H_{17}N_5O_7S_2$.

Химически чистое вещество представляет собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 172—173 °С, давлением паров $1,5 \times 10^{-3}$ мРа (25 °С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} lgP = 0,288 (pH 5), –1,47 (pH 7).

Растворимость в воде: при 25 °С < 10 мг/л; 7,3 г/л (буферный раствор, pH 7). Хорошо растворим в ацетонитриле, дихлорметане и хлороформе.

Гидролиз (25 °С), DT_{50}: 4,6 дня (pH 5), 7,2 дня (pH 7), 0,3 дня (pH 9).

Группа токсичности по ВОЗ – U; LD_{50} для крыс > 5 000 мг/кг.

Область применения

Послевсходовый системный гербицид, эффективный в борьбе со злаковыми однолетними и многолетними сорняками. Используется для защиты кукурузы, картофеля и томатов.

Гигиенические нормативы для римсульфурона в России: МДУ для римсульфурона в томатах 0,05 мг/кг.

1. 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.

Таблица 1

Метрологические параметры

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, %
Томаты	0,01—0,1	8	9	11	22
* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$					

Таблица 2

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

Объект анализа	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон измеряемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Томаты	0,01	0,01—0,1	85,3	5,08	2,54

2. Метод измерения

Методика основана на определении римсульфурона методом ВЭЖХ с использованием УФ-детектора после его экстракции из томатов с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями и на патронах Диапак С 16.

Идентификация римсульфурона проводится по времени удерживания, количественное определение – методом абсолютной калибровки.

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф «Альянс» фирмы «Waters» с УФ-детектором (Waters 2487) с дегазатором и автоматическим пробоотборником	
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—01
Весы технические ВЛКТ-500	ГОСТ 24104—01
Колбы мерные на 10, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микродозаторы Ленпипет переменного объема от 200 до 1 000 $мм^3$ и от 1 до 5 $см^3$, вид климатического исполнения УХЛЧ.2	ГОСТ 50444
Пипетки градуированные объемом 1, 2, 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
pH-метр универсальный ЭВ-74	ГОСТ 22261—76
Цилиндры мерные на 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 23932—90

Примечание. Допускается использование средств измерения иных производителей с аналогичными характеристиками, но не ниже указанных.

3.2. Реактивы

Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил для ВЭЖХ, сорт 1 или хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ 6709—79
Гексан, хч	ТУ 2631-003-05807999—98
Кислота ортофосфорная, хч	ГОСТ 6552—80
Метилен хлористый	ТУ 2631-019-44493179—98
Натрий серно-кислый безводный, ч, свежепрокаленный	ГОСТ 4166—76

Римсульфурон, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,9% (Sigma-Aldrich)

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичной квалификацией, но не ниже указанной.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка SunFire C18 (250 × 4,6) мм, 5 мкм (Waters, USA)	
Бидистиллятор	
Вакуумный манипулятор для работы с патронами для твердофазной экстракции (Waters, кат. № WAT 200677)	
Ванна ультразвуковая УЗВ-1.3	ГОСТ Р МЭК 60335-2-15—98
Воронки делительные объемом 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные В-75-110	ГОСТ 25336—82
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505—63
Колбы плоскодонные на шлифах КШ 250 $^{29}/_{32}$ ТС	ГОСТ 25336—82
Колбы-концентраторы емкостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Патроны Диапак С16 (Биохиммак) 0,4 г	
Предколонка Waters SunFire C18 (20 × 4,6) мм, 5 мкм (Waters, USA).	
Ротационный испаритель вакуумный Buchi R-205	
Стаканы химические объёмом 100, 200 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6.091678—86

Примечание. Допускается использование другого вспомогательного оборудования с техническими характеристиками не ниже указанных.

4. Требования безопасности

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

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.

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по

ГОСТ 12.4.009. 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».

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют следующие условия:

• 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 определению

7.1. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа колонку (SunFire C18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1—2 ч.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. Приготовление 50 %-го раствора ацетона: в мерную колбу емкостью 1 $дм^3$ помещают 500 мл ацетона и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.2.2. Приготовление 2М раствора ортофосфорной кислоты: 200 г 98 %-й (или 225 г 87 %-й) кристаллической H_3PO_4 помещают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, растворяют в 600 $см^3$ дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.2.3. Приготовление 0,005М раствора ортофосфорной кислоты: в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$ помещают 2,5 $см^3$ 2М раствора H_3PO_4 и доводят объем до метки водой для ВЭЖХ.

7.2.4. Приготовление подвижной фазы: в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$ помещают 400 $см^3$ ацетонитрила и доводят объем до метки 0,005М раствором ортофосфорной кислоты.

7.2.5. Приготовление элюента: в колбе на 100 $см^3$ смешивают 50 $см^3$ ацетонитрила и доводят объем до метки дистиллированной водой.

7.3. Приготовление основного и градуировочных растворов

Основной раствор с концентрацией 0,5 мг/$см^3$: точную навеску римсульфурона (50 ± 0,1) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в ацетонитриле и доводят до метки тем же растворителем.

Градуировочные растворы с концентрациями 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы.

Основной раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 недели, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты определения для внесения в матрицу используют ацетонитрильные растворы римсульфурона, которые готовят из основного стандартного раствора с концентрацией 0,5 мг/$см^3$ методом последовательного разбавления ацетонитрилом.

7.4. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация римсульфурона в растворе) в хроматограф вводят по 20 $мм^3$ градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации римсульфурона в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент (K) в уравнении линейной регрессии:

$$C = K S, \text{ где}$$

S – площадь пика градуировочного раствора.

Градуировку признают удовлетворительной, если значение коэффициента линейной корреляции оказывается не ниже 0,99.

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

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

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

C – аттестованное значение массовой концентрации римсульфурона в градуировочном растворе;

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

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

7.5. Подготовка патронов Диапак С16

Непосредственно перед употреблением через патрон последовательно пропускают по 2 см^3 ацетонитрила и воды. Скорость потока не более 2 см^3/мин.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб для анализа проводят в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», от 21.08.1979 № 2051—79, а также в соответствии с ГОСТ 1725—85 «Томаты свежие. Требования при заготовках и поставках».

Пробы плодов томатов помещают в морозильную камеру с температурой –18 °С и хранят в закрытой полиэтиленовой таре.

9. Проведение определения

9.1. Определение римсульфурона в плодах томатов

В коническую колбу емкостью 250 см^3 помещают (20 ± 0,1) г измельченного образца и экстрагируют римсульфурон 50 см^3 смеси ацетон–вода (50 : 50, по объёму) на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют. Объединенный экстракт упаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Объём водного остатка доводят до 100 см^3 дистиллированной водой, помещают в делительную воронку объёмом 250 см^3 и промывают дважды гексаном порциями по 25 см^3, встряхивая смесь каждый раз в течение 2—3 мин и отбрасывая после расслоения верхний органический слой.

Водную фазу подкисляют 2М ортофосфорной кислотой до pH 3 и римсульфурон экстрагируют хлористым метиленом дважды по 50 см^3, встряхивая воронку каждый раз по 2—3 мин. Верхний водный слой от-

брасывают. Объединенную органическую фазу фильтруют через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10—15 см^3 хлористого метилена. Полученный раствор выпаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 см^3 дистиллированной воды и количественно переносят в откондиционированный патрон (п. 7.5). Фильтрат отбрасывают. Римсульфурон элюируют 3 см^3 смеси ацетонитрил–вода в соотношении 50 : 50, приготовленной по п. 7.2.5. Элюат упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы и 20 мм^3 полученного раствора вводят в хроматограф.

9.2. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф «Альянс» фирмы Waters с УФ-детектором (Waters 2487) или другой с аналогичными характеристиками. Рабочая длина волны 230 нм.

Предколонка Waters SunFire C18 (20 × 4,6) мм, 5 мкм (Waters, USA) для защиты аналитической колонки. Колонка SunFire C18 (250 × 4,6) мм, 5 мкм (Waters, USA). Температура колонки 30 °С. Подвижная фаза: ацетонитрил – 0,005М раствор ортофосфорной кислоты в соотношении 40 : 60. Скорость потока 1 см^3/мин. Дозируемый объем 20 мм^3. Линейный диапазон детектирования 0,05—1,0 мкг/см^3.

Время удерживания римсульфурона (11,5 ± 0,2) мин.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание римсульфурона X (мг/кг) вычисляют по формуле:

$$\tilde{O} = \frac{S_x \text{Ч} K \text{Ч} V \text{Ч} 100}{P \text{Ч} f}, \text{ где}$$

S_x – площадь пика римсульфурона на хроматограмме испытуемого образца, (AU · с);

K – градуировочный коэффициент, найденный на стадии построения соответствующей градуировочной зависимости;

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

P – навеска анализируемого образца, г;

f – полнота извлечения римсульфурона, приведенная в табл. 2, (%).

Содержание остаточных количеств римсульфурона в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор римсульфурона с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

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 ($r = 2{,}8\sigma_r$).

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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 0,01 мг/кг**).

* – *0,01 мг/кг – предел обнаружения римсульфурона в плодах томатов.*

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$\tilde{N}_a = D_{ë,\bar{O}} + D_{ë,\bar{O}\check{y}}, \text{ где}$$

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

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\bar{O}\check{y}$, $\bar{O}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 4) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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 к их устранению.

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

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

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

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

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

14. Разработчики

Долженко В. И., Цибульская И. А., Черменская Т. Д., Ковров Н. Г. (ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений Россельхозакадемии, Санкт-Петербург).

gost.e-ecolog.ru