**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств феноксикарба в яблоках, сливах и винограде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.2272—07**

Издание официальное

**Москва • 2009**

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. Методы контроля. Химические факторы

# Определение остаточных количеств феноксикарба в яблоках, сливах и винограде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.2272-07**

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный Государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г.Г. Онищенко
24 сентября 2007 г.
Дата введения: 10 декабря 2007 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы

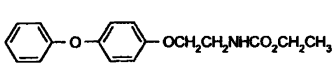
# Определение остаточных количеств феноксикарба в яблоках, сливах и винограде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.2272-07

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации феноксикарба в яблоках и сливах в диапазоне 0,01-0,1 мг/кг, в ягодах в соке винограда в диапазоне 0,05-0,5 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Феноксикарб

Название вещества по ИЮПАК: Этил [2-(4-феноксифе-нокси) этил]карбамат



$C_{17}H_{19}NO_4$
Мол. масса: 301,3

Белый кристаллический порошок. Температура плавления: 53-54$^0$С. Давление паров при 25$^0$С: 8,67 х $10^{-4}$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: $K_{OW}$ log P = -4,07. Растворимость (г/л) при 25$^0$С: ацетон - 770, этанол – 510, толуол – 630, гексан – 5,3, н-октанол – 130, вода - 0,008.

Вещество стабильно на свету и не гидролизуется в водных растворах при pH 3-9.

*Краткая токсикологическая характеристика*

Острая пероральная токсичность ($LD_{50}$) для крыс – более 10000 мг/кг; острая дермальная токсичность ($LD_{50}$) для крыс - более 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность ($LC_{50}$) для крыс - более 4400 мг/м$^3$ воздуха. Феноксикарб не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика. $LC_{50}$ для рыб- 1,6 - 10,3 мг/л (96 час.).

Инсектицид нетоксичен для птиц, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов и пчел.

Гигиенические нормативы для феноксикарба в России:

ДСД – 0,05 мг/кг/сутки;

МДУ в яблоках и сливах – 0,01 мг/кг, в винограде – 0,1 мг/кг.

*Область применения*

Феноксикарб – регулятор роста насекомых ювеноидного типа с контактно-кишечным действием. Применяется против вредителей из отряда чешуекрылых на хлопчатнике, виноградниках, фруктовых деревьях и декоративных культурах.

*Применяется в России в качестве инсектицида для борьбы с яблонной и сливовой плодожоркой, гроздевой листоверткой на плодовых семечковых и косточковых культурах и виноградниках путем однотрехкратного опрыскивания в течение вегетационного сезона с нормой расхода 0,1 – 0,15 кг д.в./га.*

## 1. Метрологические характеристики 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 таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

**Метрологические параметры**

| Анализируемый объект | Диапазон определяемых концентраций мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности ), ±δ, % | Стандартное отклонение повторяемости $\sigma_r$, % | Предел повторяемости, r, % | Предел воспроизводимости, R, % |
|---|---|---|---|---|---|

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Ягоды винограда | от 0,05 до 0,1 вкл. | 50 | 2,8 | 7,9 | 12,4 |
| | более 0,1 до 0,5 | 25 | 2,7 | 7,6 | 11,8 |
| Сок винограда | от 0,05 до 0,1 вкл. | 50 | 3,5 | 9,8 | 15,2 |
| | более 0,1 до 0,5 | 25 | 2,7 | 7,6 | 11,8 |
| Яблоки | 0,01 | 100 | 3,2 | 9,0 | 14,0 |
| | более 0,01 до 0,1 вкл. | 50 | 2,8 | 7,9 | 12,4 |
| Сливы | 0,01 | 100 | 2,9 | 8,2 | 12,8 |
| | Более 0,01 до 0,1 вкл. | 50 | 2,7 | 7.6 | 11,8 |

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

Таблица 2

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

| Анализируемый объект | Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Предел обнаружения, мг/кг | Диапазон определяемых концентраций мг/кг | Среднее значение определения, % | Стандартное отклонение, S, % | Доверительный интервал среднего результата, ±% |
| Ягоды винограда | 0,05 | 0,05-0,5 | 83,4 | 3,0 | ±2,8 |
| Сок винограда | 0,05 | 0,05-0,5 | 84,5 | 3,2 | ±3,0 |
| Яблоки | 0,01 | 0,01-0,1 | 84,7 | 3,4 | ±3,1 |
| Сливы | 0,01 | 0,01-0,1 | 84,0 | 3,2 | ±3,0 |

## 2. Метод измерений

Методика основана на определении феноксикарба с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Контроль феноксикарба в образцах яблок, сливы, ягод и сока винограда осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из сока гексаном, из яблок, слив и ягод метанолом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

## 3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

### *3.1. Средства измерений*

| | |
|---|---|
| Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирма Knauer, Германия) | Номер Госреестра №16848-03 |
| Весы аналитические ВЛА-200 | ГОСТ 2104 |
| Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г | ГОСТ 7328 |
| Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2 | ГОСТ 1770 |
| Меры массы | ГОСТ 7328 |
| Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$ | ГОСТ 29227 |
| Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$ | ГОСТ 1770 |
| Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$ | ГОСТ 1770 |

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *3.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Феноксикарб, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,5% (Сингента, Швейцария) | |
| Ацетонитрил для хроматографии, хч | ТУ 6-09-3534-87 |
| Вода бидистиллированная или деионизованная | ГОСТ 6702 |
| н-Гексан, хч | ТУ 6-09-3375 |
| Кислота орто-фосфорная, хч, 85% | ГОСТ 6552 |
| Метиловый спирт (метанол), хч | ГОСТ 6995 |
| Натрий сернокислый, безводный, хч | ГОСТ 4166 |
| Натрий хлористый, хч | ГОСТ 4233 |
| Натрий двууглекислый, хч | ГОСТ 83-79 |
| Этиловый эфир уксусной кислоты, ч | ГОСТ 22300 |

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией

### *3.3. Вспомогательные устройства, материалы*

| | |
|---|---|
| Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма Branson Instr. Co. (США) | |
| Воронка Бюхнера | ГОСТ 0147 |
| Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$ | ГОСТ 25336 |
| Воронки конусные диаметром 30-37 мм | ГОСТ 25336 |
| Гомогенизатор | МРТУ 42-1505 |
| Дефлегматор елочный | ГОСТ 9737 |
| Колба Бунзена вместимостью 250 $см^3$ | ГОСТ 5614 |
| Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 $см^3$ | ГОСТ 9737 |
| Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$ | ГОСТ 9737 |
| Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм | |

Колонка хроматографическая, стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм)
(ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва) ТУ 4215-001-05451931-94

Насос водоструйный вакуумный ГОСТ 10696

Патроны концентрирующие Диапак С8 (0,6 г), ТУ 4215-002-05451931-94
(ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва)

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ТУ 25-11-917-74
ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)

Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии
(Мерк, Германия) I степени активности

Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$ ГОСТ 25336

Стекловата

Установка для перегонки растворителей

Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные ТУ 6-09-2678-77
или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа
вместимостью 100 $мм^3$, модель Microliter # 1710 (Hamilton,США)

Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 20 $см^3$ ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

## 4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими веществами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 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 кон-

центрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

## 5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя с опытом работы на жидкостном хроматографе.

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 $(20+5)^0$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 растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

### *7.1. Очистка органических растворителей*

#### *7.1.1. Очистка ацетонитрила*

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют. Непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

#### *7.1.2. Очистка н-гексана*

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания ее в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

*7.1.3. Очистка этилацетата*

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

*7.1.4. Очистка силикагеля*

Силикагель 60 (0,063-0,20 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130$^0$С в течение 5 часов.

### *7.2. Приготовление 0,005 М и 0,01 М растворов орто-фосфорной кислоты*

В мерную колбу вместимостью 1000 см$^3$ помещают соответственно 0,34 см$^3$ или 0,68 см$^3$ 85%-ной орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

### *7.3. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8 для очистки экстракта*

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 20 см$^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают 20 см$^3$ смеси гексан-этилацетат (1:9, по объему) и 30 см$^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 7 см$^3$ ацетонитрила и 7 см$^3$ смеси ацетонитрил-вода (4:6, по объему) со скоростью 5 см$^3$/мин.

### *7.4. Проверка хроматографического поведения феноксикарба на колонке с силикагелем*

В круглодонную колбу вместимостью 10 см$^3$ помещают 0,1 см$^3$ градуировочного раствора № 1 феноксикарба с концентрацией

10 мкг/см$^3$ в ацетонитриле (п. 7.7.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см$^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.3. Промывают колонку 30 см$^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 50 см$^3$ смеси гексан-этилацетат (7:3, по объему). Фракционно (по 10 см$^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см$^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 2 см$^3$ подвижной фазы, подготовленной по п. 7.5., перемешивают и анализируют на содержание феноксикарба по п. 9.5.

### *7.5. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ*

В мерную колбу вместимостью 1000 см$^3$ помещают 650 см$^3$ ацетонитрила, 350 см$^3$ 0,005 М водного раствора орто-фосфорной кислоты (п.7.2.), перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр. Эта подвижная фаза 1 используется при исследовании образцов винограда и сливы.

В мерную колбу вместимостью 1000 см$^3$ помещают 500 см$^3$ ацетонитрила, 500 см$^3$ 0,01 М водного раствора орто-фосфорной кислоты (п.7.2.), перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр. Эта подвижная фаза 2 используется при исследовании образцов яблок.

### *7.6. Кондиционирование хроматографической колонки*

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.5.) при скорости подачи растворителя 1 см$^3$/мин не менее часа до установления стабильной базовой линии.

### *7.7. Приготовление градуировочных растворов*

*7.7.1. Исходный раствор феноксикарба для градуировки (концентрация 100 мкг/см$^3$).* В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают 0,010 г феноксикарба, растворяют в 40-50 см$^3$ ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше – 18$^0$С в течение 3-х месяцев.

*7.7.2. Раствор феноксикарба №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см$^3$).*

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора феноксикарба с концентрацией 100 $мкг/см^3$ (п. 7.7.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб яблок, слив, ягод и сока винограда с внесением при оценке полноты извлечения феноксикарба из исследуемых образцов используют ацетонитрильный раствор феноксикарба с концентрацией 1 $мкг/см^3$.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше $-18^0$С в течение месяца.

*7.7.3. Рабочие растворы №№ 2-5 феноксикарба для градуировки (концентрация 0,05-0,5 мкг/см$^3$).*

В 4 мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают 0.5, 1.0, 2.5 и 5.0 $см^3$ градуировочного раствора № 1 феноксикарба с концентрацией 10 $мкг/см^3$ (п. 7.7.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.5., тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией феноксикарба 0.05, 0.10, 0.25 и 0.5 $мкг/см^3$, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

### *7.8. Установление градуировочной характеристики*

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мм) от концентрации феноксикарба в растворе ($мкг/см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 $мм^3$ каждого градуировочного раствора (п.7.7.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

## 8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 25896-83 «Виноград свежий столовый», ГОСТом 16270-70 «Яблоки свежие ранних сортов созревания. ТУ», ГОСТом 21122-75 «Яблоки свежие поздних сортов созревания. ТУ», ГОСТом

27572-87 «Яблоки свежие для промышленной переработки. ТУ», ГОСТом 21920-76 «Слива и алыча крупноплодная. ТУ».

Пробы плодов и ягод хранят в стеклянной посуде в холодильнике при температуре $4^0$С не более 2-х дней; при длительном хранении пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре – $18^0$С. Сок получают из ягод непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом плоды и ягоды измельчают.

## 9. Выполнение определения

### *9.1. Экстракция феноксикарба*

9.1.1. *Плоды, ягоды.* Навеску (20 г) измельченного растительного материала помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см$^3$, приливают 100 см$^3$ метанола и гомогенизируют 5 минут при 8000 об/мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см$^3$. Осадок на фильтре промывают 50 см$^3$ метанола. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/4 его часть (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см$^3$. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2.

9.1.2. *Сок.* Навеску (20 г) свежевыжатого сока помещают в химический стакан вместимостью 100 см$^3$, приливают 60 см$^3$ деионизованной воды и перемешивают. Отбирают 1/4 объема раствора (эквивалентна 5 г образца), переносят в делительную воронку вместимостью 100 см$^3$, приливают 25 см$^3$ насыщенного раствора хлорида натрия и 30 см$^3$ гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см$^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 25 см$^3$ гексана. Объединенную органическую фракцию, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре $30^0$С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3. и 9.4.

### *9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей*

Отобранные аликвоты экстрактов плодов и ягод (из пп. 9.1.1.) упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (1-2 $см^3$) при температуре $40^0$С. К водному остатку приливают 15 $см^3$ деионизованной воды, 25 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. В воронку вносят 30 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой собирают в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, а нижнюю водную фазу экстрагируют еще дважды, используя по 25 $см^3$ гексана. Гексановые фракции объединяют, в воронку вносят 40 $см^3$ 0,5%-ного водного раствора двууглекислого натрия и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний водный слой отбрасывают, а гексановую фракцию повторно обрабатывают 30 $см^3$ 0,5%-ного водного раствора двууглекислого натрия при встряхивании. После разделения фаз гексановую фракцию фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ и затем упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре $30^0$С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3 и 9.4.

### *9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем*

Сухие остатки в круглодонной колбе, полученные по пп. 9.1.2. и 9.2., растворяют в 2,4 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 0,6 $см^3$ этилацетата, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.3. Колбу обмывают 5 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 15 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Феноксикарб элюируют с колонки 45 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (7:3, по объему), отбрасывая первые 10 $см^3$ элюата и собирая последующие 35 $см^3$ элюата непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре $30^0$С.

### *9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак С8*

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.3., растворяют в 1,2 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 1,8 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на концентрирующий патрон Диапак С8, подготовленный по п.7.3., элюат отбрасывают. Колонку промывают 2 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (1:1, по объему), элюат отбрасывают. Феноксикарб элюируют с патрона 5 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (6:4, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха при температуре не выше $40^0$С. Остаток в колбе растворяют в 1 $см^3$ (для яблок и слив) или 5 $см^3$ (для винограда) соответствующей подвижной фазы, подготовленной по п.7.3., помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание феноксикарба по пп. 9.5.1. или 9.5.2.

### *9.5. Условия хроматографирования*

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирма Knauer, Германия)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая в качестве неподвижной фазы Диасфер 110-С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Рабочая длина волны: 230 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Линейный диапазон детектирования 1 - 10 нг

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

#### *9.5.1. Исследование образцов винограда и сливы*

Подвижная фаза 1: ацетонитрил-0,005 М $H_3PO_4$ (65:35, по объему)

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

Время удерживания феноксикарба: около 6 минут.

#### *9.5.2. Исследование образцов яблок*

Подвижная фаза 2: ацетонитрил-0,01 М $H_3PO_4$ (50:50, по объему)

Скорость потока элюента: 0,9 $см^3$/мин

Время удерживания феноксикарба: около 14 минут.

## 10. Обработка результатов анализа

Содержание феноксикарба рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}, \text{ где}$$

X - содержание феноксикарба в пробе, мг/кг;

$H_1$ - высота пика образца, мм;

$H_0$ - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора феноксикарба, мкг/см$^3$;

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

m - масса анализируемой части образца, г (для всех объектов – 5 г).

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

где $X_1$, $X_2$- результаты параллельных определений, мг/кг;

r- значение предела повторяемости (таблица 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:

$$(\overline{X} \pm \Delta) \text{ мг/кг при вероятности } P = 0.95,$$

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

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

*«содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»*

*менее 0.01 мг/кг* для яблок и слив и менее 0,05 мг/кг ** для ягод и сока винограда*

** 0.01 мг/кг - предел обнаружения для яблок и слив.*

*** 0,05 мг/кг - предел обнаружения для ягод и сока винограда.*

## 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:

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

где $\pm \Delta_{л,\overline{X}} (\pm \Delta_{л,\overline{X}})$ – 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;

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

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д,$$

где $\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ - среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.11) содержания компо-

нента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

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

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

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 двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

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

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

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

## 14. Разработчики

Талалакина Т.Н., науч. сотр; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук.

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20

**ББК 51.21**
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств феноксикарба в яблоках, сливах и винограде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания. – *М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии* Роспотребнадзора, 2009. – 18 с.

1. Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии (Т.Н. Талалакина, А.М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 2 от 21.06.2007 г.).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 24 сентября 2007 г.

4. Введены в действие с 10 декабря 2007 г.

5. Введены впервые.

**ББК 51.21**

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20.

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

**© Роспотребнадзор, 2009**
**© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009**

gost.e-ecolog.ru