Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, орехах (древесных), фруктах (манго, папайя, дыня), томатах (плоды, сок), огурцах, перце, баклажанах, луке, капусте (брокколи, цветной, брюссельской, белокочанной), бананах, кофе (бобах) методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3282—15

Издание официальное

Москва • 2016

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 тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, орехах (древесных), фруктах (манго, папайя, дыня), томатах (плоды, сок), огурцах, перце, баклажанах, луке, капусте (брокколи, цветной, брюссельской, белокочанной), бананах, кофе (бобах) методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3282—15

ББК 51.23
О62

О62 **Определение** остаточных количеств тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, орехах (древесных), фруктах (манго, папайя, дыня), томатах (плоды, сок), огурцах, перце, баклажанах, луке, капусте (брокколи, цветной, брюссельской, белокочанной), бананах, кофе (бобах) методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1464—0

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Т. В. Юдина, М. В. Ларькина, С. К. Рогачева).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 мая 2015 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 8 июля 2015 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1464—0

© Роспотребнадзор, 2016
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
8 июля 2015 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, орехах (древесных), фруктах (манго, папайя, дыня), томатах (плоды, сок), огурцах, перце, баклажанах, луке, капусте (брокколи, цветной, брюссельской, белокочанной), бананах, кофе (бобах) методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3282—15

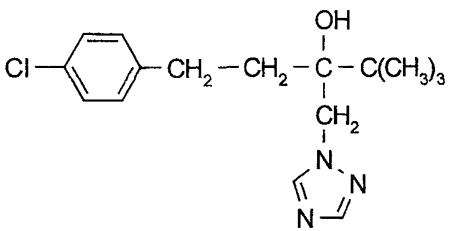
Свидетельство об аттестации № РОСС RU.0001.310430/0222.11.11.14.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, фруктах (манго, папайя, дыня), в орехах (древесных), томатах (плоды, сок), огурцах, перце, баклажанах, луке, капусте (брокколи, цветной, брюссельской, белокочанной), бананах и кофе (бобах) 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Тебуконазол

4-Амино-3,6-дихлорпиридин-2-карбоновая кислота (ИЮПАК)



Эмпирическая формула: $C_6H_4Cl_2N_2O_2$.

Молекулярная масса: 207,026.

Желтоватый порошок. Температура плавления 163,5—165,2 °С, разлагается в точке плавления. Давление паров $9{,}52 \times 10^{-9}$ Па (20 °С). Растворимость в воде 2,48 г/дм^3 при 20 °С (pH = 2,35); 205—203 г/дм^3 при 20 °С (pH = 7 и 9). Растворимость в органических растворителях при 20 °С (г/дм^3): гептане < 10; ксилоле – 0,05; дихлорэтане – 0,15; этилацетате – 4,37; ацетоне – 37,0; метаноле – 66,4. Коэффициент распределения н-октанол/вода K_{ow} log P = 1,76 при pH = 5; 2,87 – при pH = 7; 2,96 – при pH = 9 (при температуре 19 °С).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 мг/кг, острая ингаляционная токсичность LC_{50} крысы более 5 500 мг/дм^3.

Область применения

Тебуконазол – гербицид системного ауксиноподобного действия из группы пиридинкарбоновых кислот. Рекомендуется для послевсходовой обработки зерновых культур и пастбищ против широкого спектра широколистных сорняков.

1. Погрешность измерений

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), $\pm \delta$, %, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, %
Плоды цитрусовых	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,1	6,0	11	16
Сок цитрусовых	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,8	5,0	11	15
Плодовые косточковые	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	5,0	10	14
Плодовые семечковые	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,8	5,0	11	15
Орехи	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,5	5,0	10	14
Фрукты	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	5,0	10	14
Плоды томатов	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,9	6,0	11	15
Сок томатов	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,2	5,0	9	13
Огурцы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	5,0	10	14
Перец	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	5,0	11	15
Баклажаны	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,9	6,0	11	15
Лук	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,0	4,0	9	12
Капуста	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	5,0	10	14
Бананы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,3	6,0	12	17
Кофе	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	5,0	10	14

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

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	средняя полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Плоды цитрусовых	0,01	0,01—0,1	87,6	6,1	3,2
Сок цитрусовых	0,01	0,01—0,1	84,8	4,6	2,5
Плодовые косточковые	0,01	0,01—0,1	86,0	5,4	2,9
Плодовые семечковые	0,01	0,01—0,1	87,0	5,3	2,8
Орехи	0,01	0,01—0,1	89,5	6,1	3,2
Фрукты	0,01	0,01—0,1	89,2	5,6	3,0
Плоды томатов	0,01	0,01—0,1	80,9	3,1	1,7
Сок томатов	0,01	0,01—0,1	82,2	2,9	1,5
Огурцы	0,01	0,01—0,1	86,9	4,4	2,3
Перец	0,01	0,01—0,1	86,9	3,7	2,0
Баклажаны	0,01	0,01—0,1	87,4	4,6	2,5
Лук	0,01	0,01—0,1	88,0	5,1	2,7
Капуста	0,01	0,01—0,1	89,3	5,3	2,8
Бананы	0,01	0,01—0,1	88,2	5,7	3,0
Кофе	0,01	0,01—0,1	89,1	5,4	2,9

2. Метод измерений

Метод основан на экстракции тебуконазола из исследуемой пробы растворителем, очистке экстрактов от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, далее на колонке с флорисилом с последующим измерением содержания тебуконазола методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) при программировании температуры и обработкой хроматограмм методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф, снабженный термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле 5×10^{-19} г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	
Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст. и с пределом допустимой погрешности (1 ± 2,5) мм рт. ст.	ТУ 2504-1799—75
Весы аналитические с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности ± 0,001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Микропипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 0,1 $см^3$	
Микрошприц вместимостью 10 $мм^3$	
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Тебуконазол, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,1 %	
Азот газообразный (чистота 99,999 %) в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан (гексан), осч	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), насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Кислота соляная (хлороводородная), хч	ГОСТ 3118—77
Натрий серно-кислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч, 5 %-й водный раствор	ГОСТ 4233—77
Флорисил, для колоночной хроматографии (60—100 меш.)	
Циклогексан для хроматографии, хч	ТУ 2631-069-44493179—01
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующей дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания	
Баня водяная	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Бумажные фильтры средней и высокой плотности	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронка делительная вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Груша резиновая	
Гомогенизатор бытовой	ТУ 9398-05-0576-9082—03
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы конические (плоскодонные) вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93

Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающий вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком вместимостью 100, 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая кварцевая капиллярная колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенилполисилоксан и 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм)	

Примечание. Допускается применение оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

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 Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый 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 норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны» и ГН 2.2.5.2308—07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 $кгс/см^2$), необходимо соблюдать «Правила устройства и

безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576-03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалиста, имеющего квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на газовом хроматографе, освоившего данную методику и подтвердившего 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 газовом 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, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции и очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения тебуконазола на ней.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством марганцево-кислого калия и безводным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. 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.

7.1.3. Этилацетат

7.1.3.1. 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.

7.1.3.2. Очистка растворителя. Этилацетат промывают последовательно 5 %-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным 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. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1. Исходный раствор тебуконазола для градуировки (концентрация 250 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,025 г тебуконазола, растворяют в 50—70 см^3 ацетона, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.2. Раствор № 1 тебуконазола для градуировки и внесения (концентрация 25 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора тебуконазола для градуировки с концентрацией 250 мкг/см^3 (п. 7.2.1), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено» и контроля качества результатов измерений методом добавок.

Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.2.3. Рабочие растворы № 2—5 тебуконазола для градуировки и внесения (концентрации 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 см^3 раствора № 1 тебуконазола с концентрацией 25,0 мкг/см^3 (п. 7.2.2), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией тебуконазола 0,25; 0,5; 1,0 и 2,5 мкг/см^3 соответственно.

Растворы № 2—5 хранятся в течение 2 недель в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (S, мВ · с) от концентрации тебуконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки № 2—5.

В инжектор хроматографа вводят 2 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

Устанавливают площади пиков действующего вещества, на основании которых строят градуировочную зависимость.

7.4. Приготовление смесей и растворов для экстракции и очистки экстрактов на колонке

7.4.1. Смесь ацетон–вода (объемное соотношение 2 : 1). В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 666 см^3 ацетона и 333 см^3 деионизованной воды, перемешивают.

7.4.2. 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.

7.4.3. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 4 : 6). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 40 см^3 гексана и 60 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.5. Подготовка колонки с флорисилом

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г флорисила в 20 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают 20 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

7.6. Проверка хроматографического поведения тебуконазола на колонке с флорисилом

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,2 см^3 раствора № 1 тебуконазола для внесения с концентрацией 25,0 мкг/см^3 (п. 7.2.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (в объемном соотношении 8 : 2), выдерживают на УЗ-бане в течение 60 секунд, далее наносят на колонку, подготовленную по п. 7.5. 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.

Затем колонку промывают 40 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Действующее вещество смывают 80 см^3 смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по

объему). Фракционно (по 10 $см^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ этилацетата, анализируют содержание тебуконазола по п. 9.4.

Фракции, содержащие тебуконазол, объединяют и вновь анализируют.

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

Примечание. Проверку хроматографического поведения тебуконазола 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 4427—82 «Апельсины. Технические условия»; ГОСТ 4428—82 «Мандарины. Технические условия»; ГОСТ 4492—82 «Лимоны. Технические условия»; ГОСТ 1725—85 «Томаты свежие. Технические условия»; ГОСТ Р 51810—01 «Томаты свежие, реализуемые в розничной торговой сети. Технические условия»; ГОСТ 1726—85 «Огурцы свежие. Технические условия»; ГОСТ 13908—68 «Перец сладкий свежий. Технические условия»; ГОСТ 1724—85 «Капуста белокочанная свежая, заготовляемая и поставляемая. Технические условия»; ГОСТ Р 51809—01 «Капуста белокочанная свежая, реализуемая в розничной торговой сети. Технические условия»; ГОСТ 7968—89 Капуста цветная свежая. Требования при заготовках, поставках и реализации»; ГОСТ 13907—86 «Баклажаны свежие. Технические условия»; ГОСТ Р 53071—08 «Баклажаны свежие, реализуемые в розничной торговле. Технические условия»; ГОСТ 7975—68 «Тыква продовольственная свежая. Технические условия»; ГОСТ Р 53088—08 «Лук порей свежий, реализуемый в розничной торговле. Технические условия»; ГОСТ 26313—84 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб», а также «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.1979).

Отобранные пробы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике в темноте не более 7 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С.

Сок анализируют в день подготовки пробы.

Перед анализом образцы измельчают с помощью гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция цитрусовых, плодовых косточковых, плодовых семечковых, фруктов, томатов (плоды, сок), огурцов, перца, баклажанов, лука, капусты, бананов

Измельченные образцы исследуемых продуктов массой 25 г вносят в коническую колбу на 250—300 $см^3$, добавляют 70 $см^3$ смеси ацетон–вода (объемное соотношение 2 : 1), приготовленной по п. 7.4.1, интенсивно встряхивают вручную в течение 3 минут и помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут.

Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Осадок промывают дважды, по 20 $см^3$, смесью ацетон–вода (объемное соотношение 2 : 1), объединенный экстракт переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 $см^3$. Раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водного остатка, к которому добавляют 10 $см^3$ насыщенного раствора натрия хлористого и 20 $см^3$ дистиллированной воды. Далее проводят экстракцию в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.4 и очистку на колонке с флорисилом по п. 9.5.

9.2. Экстракция орехов (древесных)

Измельченные образцы массой 25 г вносят в коническую колбу на 250—300 $см^3$, добавляют 70 $см^3$ ацетонитрила, интенсивно встряхивают вручную в течение 3 минут и помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут.

Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Осадок промывают дважды, по 30 $см^3$, ацетонитрила, объединенный экстракт переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$. Дважды промывают содержимое воронки 20 $см^3$ гексана, каждый раз встряхивая ее в течение 2 минут. Нижнюю ацетонитрильную фракцию собирают в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 $см^3$. Раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С досуха.

Сухой остаток подвергают дополнительной очистке на колонке с флорисилом по п. 9.5.

9.3. Экстракция кофе (бобов)

Измельченные образцы массой 25 г вносят в коническую колбу на 250—300 $см^3$, добавляют 70 $см^3$ смеси ацетон–вода (объемное соотношение 2 : 1), приготовленной по п. 7.4.1, интенсивно встряхивают вручную в течение 3 минут и в течение 15 минут выдерживают на ультразвуковой бане.

Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Осадок промывают дважды, по 30 $см^3$, смесью ацетон–вода (объемное соотношение 2 : 1), выдерживая каждый раз на ультразвуковой бане по 15 минут, после чего фильтруют. Осадок на фильтре промывают 20 $см^3$ гексана. Объединенный экстракт и промывную жидкость переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 $см^3$. Раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водного остатка, к которому добавляют 10 $см^3$ насыщенного раствора натрия хлористого и 20 $см^3$ дистиллированной воды. Далее проводят экстракцию в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.4 и очистку на колонке с флорисилом по п. 9.5.

9.4. Экстракция в системе несмешивающихся растворителей

Водный остаток, насыщенный раствор натрия хлористого, полученный по п. 9.1, переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$. Экстрагируют действующее вещество 50 $см^3$ смеси циклогексан–этилацетат (1 : 1, по объему). Содержимое воронки интенсивно встряхивают в течение 2—3 мин. После полного разделения слоев, верхний органический слой (циклогексан–этилацетат) фильтруют через слой безводного сульфата натрия в колбу для упаривания вместимостью 250 $см^3$. Водную фракцию возвращают и дважды повторяют экстракцию новыми порциями по 50 и 20 $см^3$ указанной смеси.

Объединенный органический экстракт, пропущенный через безводный сульфат натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С. Сухой остаток подвергают дополнительной очистке на колонке с флорисилом по п. 9.5.

9.5. Очистка экстракта на колонке с флорисилом

Сухие остатки, полученные по пп. 9.2, 9.3 или 9.4, находящиеся в колбе для упаривания, растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (в объемном соотношении 8 : 2), выдерживают на УЗ-бане 60 с и наносят на колонку с флорисилом, подготовленную по п. 7.6. Колбу ополаскивают дважды порциями смеси гексан–этиацетат в объемном соотноше-

нии 80 : 20 по 3,0 $см^3$, которую также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают пробу 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 80 : 20, элюат отбрасывают.

Тебуконазол элюируют с колонки 80 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 4 : 6 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. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона и анализируют содержание тебуконазола методом ГЖХ по п. 9.6.

9.6. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф, снабженный электронно-захватным детектором.

Хроматографическая кварцевая капиллярная колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенилполисилоксан и 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: 320 °С;

испарителя: 260 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 150 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 235 °С, нагрев колонки со скоростью 3 градуса в минуту до температуры 245 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 270 °С.

Газ 1 (азот): давление 135 мПа, 36,66 см/с, поток 1,335 $см^3$/мин.

Газ 2 (азот): деление потока 1 : 3; сброс 4 $см^3$/мин (1 мин), увеличение скорости до 20 см/мин.

Скорость потока воздуха 200 $см^3$/с, водорода 13 $см^3$/мин.

Скорость газа 1 (азот): давление 90 кПа, 38,522 $см^3$/с, поток 1,783 $см^3$/мин.

Хроматографируемый объем: 2 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,5—5,0.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, разбавляют ацетоном (не более, чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

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

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

C – концентрация тебуконазола, 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 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 (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:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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 тебуконазола в пробах цитрусовых (плоды и сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, томатах (плоды и сок), фруктов, дыни, огурцов, перца, баклажанов, лука, капусты, бананов – менее 0,01 мг/кг.**

** – 0,01 мг/кг – предел обнаружения тебуконазола в пробах цитрусовых (плоды и сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, орехах (древесных), томатах (плоды и сок), фруктов, дыни, огурцов, перца, баклажанов, лука, капусты, бананов и кофе (бобах).*

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «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 тебуконазола в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,25 до 2,5 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq B, \text{ где}$$

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

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

B – норматив контроля градуировочной характеристики, % (B = 10 % при P = 0,95).

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, 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 тебуконазола, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.3.

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:

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

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компо-

нента 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:

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

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности, табл. 1), %.

Контрольный параметр процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – 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:

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

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 предела воспроизводимости (R):

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

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

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

Определение остаточных количеств тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых, орехах (древесных), фруктах (манго, папайя, дыня), томатах (плоды, сок), огурцах, перце, баклажанах, луке, капусте (брокколи, цветной, брюссельской, белокочанной), бананах, кофе (бобах) методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3282—15

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 19.02.16

Формат 60x84/16

Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз.
Заказ 28

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru