Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, в семенах и масле подсолнечника, рапса и сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3094—13

Издание официальное

Москва • 2013

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 ципроконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, в семенах и масле подсолнечника, рапса и сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3094—13

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, в семенах и масле подсолнечника, рапса и сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013. —22 с.

ISBN 978—5—7508—1228—8

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, Т. С. Калинина, А. В. Довгилевич, О. И. Рыбакова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 30 мая 2013 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 31 июля 2013 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1228—8

© Роспотребнадзор, 2013
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
31 июля 2013 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, в семенах и масле подсолнечника, рапса и сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3094—13

Свидетельство о метрологической аттестации от 4 октября 2012 г. № 01.00282—2008/0137.04.10.12.

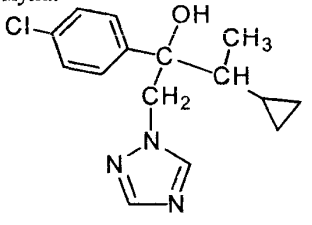
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств в зеленой массе кукурузы в диапазоне 0,5—5,0 мг/кг; в зерне и масле кукурузы в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг; в семенах и масле подсолнечника и сои в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг; в семенах и масле рапса в диапазоне 0,1—1,0 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: ципроконазол.

Название действующего вещества по ИЮПАК: (2RS,3RS;2RS,3SR)-2-(4-хлорфенил)-3-циклопропил-1-(1H-1,2,4,-триазол-1-ил)-бутан-2-ол.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{18}ClN_3O$.

Молекулярная масса: 291,8.

Агрегатное состояние: кристаллический порошок.

Цвет, запах: бесцветный.

Давление насыщенного пара: $2,6 \times 10^{-2}$ мПа (при 25 °С).

Температура плавления: 106,2—106,9 °С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода: $K_{ow}logP = 3,1$.

Растворимость в воде (мг/дм^3): 140 при 25 °С, 93 при 22 °С.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 25 °С): ацетон – 360, этанол – 230, метанол – 410, диметилсульфоксид – 180, ксилол – 120, толуол – 100, дихлорметан – 430, этилацетат – 240, гексан – 1,3, октанол – 100.

Ципроконазол стабилен в водных растворах при pH 1—9 при тестовом периоде 35 дней (50 °С) или 14 дней (80 °С). Медленно гидролизуется в 1н HCl и NaOH.

Не проявляет основных или кислотных свойств в диапазоне pH от 3,5 до 10.

Краткая токсикологическая характеристика

Ципроконазол относится к веществам малоопасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс 1 020—1 333 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг) токсичностям, но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 5 650 мг/м^3). Не вызывает раздражения глаз и не раздражает кожу. Не обладает мутагенной активностью.

Область применения

Ципроконазол – системный фунгицид защитного, куративного и искореняющего действия, быстро абсорбируется растениями и передвигается акропетально. Ингибитор деметилирования стероидов.

Предлагается в России в качестве фунгицида в посевах яровой и озимой пшеницы для борьбы с эпифитотиями бурой, желтой и стеблевой ржавчины с рекомендуемой нормой расхода по препарату 0,1 дм^3/га, с мучнистой росой, септориозом, гельминтоспориозной пятнистостью, церкоспореллезом и фузариозом колоса в дозе 0,15—0,2 дм^3/га, в посевах ржи для борьбы с возбудителями мучнистой росы, бурой ржавчины, ринхоспориоза, гельминтоспориозной пятнистостью с рекомендуемой нормой расхода 0,15—0,2 дм^3/га, в посевах сахарной свеклы против церкоспороза, мучнистой росы, ржавчины в дозе 0,15—0,2 дм^3/га.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,005 мг/кг массы тела человека; ОДК в почве – 0,2 мг/кг; ПДК в воде водоёмов – 0,001 мг/дм^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,7 мг/м^3;

ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,001 мг/м^3; МДУ в сельскохозяйственной продукции (мг/кг): зерно хлебных злаков – 0,05; свекла сахарная, горох, плодовые (семечковые), виноград – 0,1.

1. Погрешность измерений

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 значения, приведенные в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для ципроконазола

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, %	Норматив оперативного контроля точности, K, мг/кг ($P = 0,95$, $m = 2$)
Зеленая масса кукурузы	0,50—1,0 вкл.	25	2,39	6,64	9,30	$0,30 \cdot X^*$
	2,5—5,0 вкл.	25	2,79	7,76	10,86	$0,30 \cdot X^*$
Зерно кукурузы	0,05—0,10 вкл.	50	1,81	5,03	7,05	$0,59 \cdot X^*$
	0,25—0,50 вкл.	25	2,91	8,09	11,33	$0,30 \cdot X^*$
Масло кукурузы	0,05—0,10 вкл.	50	3,43	9,54	13,35	$0,59 \cdot X^*$
	0,25—0,50 вкл.	25	3,76	10,45	14,63	$0,30 \cdot X^*$
Семена подсолнечника	0,02—0,04 вкл.	50	3,09	8,59	12,03	$0,59 \cdot X^*$
	0,10—0,20 вкл.	25	3,22	8,95	12,53	$0,30 \cdot X^*$
Масло подсолнечника	0,02—0,04 вкл.	50	3,66	10,18	14,25	$0,59 \cdot X^*$
	0,10—0,20 вкл.	25	4,49	12,48	17,48	$0,30 \cdot X^*$
Семена сои	0,02—0,04 вкл.	50	2,50	6,95	9,73	$0,59 \cdot X^*$
	0,10—0,20 вкл.	25	1,18	3,28	4,59	$0,30 \cdot X^*$
Масло сои	0,02—0,04 вкл.	50	2,69	7,48	10,47	$0,59 \cdot X^*$
	0,10—0,20 вкл.	25	2,99	8,31	11,64	$0,30 \cdot X^*$
Семена рапса	0,10—1,0 вкл.	25	2,76	7,67	10,74	$0,30 \cdot X^*$
Масло рапса	0,10—1,0 вкл.	25	3,31	9,20	12,88	$0,30 \cdot X^*$

* X – среднее значение массовой концентрации ципроконазола в пробе, мг/кг.

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для ципроконазола

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, ±, %
Зеленая масса кукурузы	0,50	0,50—5,0	81,55	1,88	0,88
Зерно кукурузы	0,05	0,05—0,50	86,84	1,81	0,85
Масло кукурузы	0,05	0,05—0,50	77,40	3,58	1,68
Семена подсолнечника	0,02	0,02—0,20	81,84	2,24	1,05
Масло подсолнечника	0,02	0,02—0,20	78,41	2,74	1,28
Семена сои	0,02	0,02—0,20	79,73	1,56	0,73
Масло сои	0,02	0,02—0,20	82,03	1,96	0,92
Семена рапса	0,10	0,10—1,0	83,22	2,07	0,97
Масло рапса	0,10	0,10—1,0	84,33	2,18	1,02

2. Метод измерения

Метод основан на определении ципроконазола методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием детектора по захвату электронов после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на колонках с флоризилом.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность метода достигается за счет подбора колонки и условий программирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III), с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 10 $мм^3$ со шкалой деления 0,1 $мм^3$ и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 %	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки; – компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Ципроконазол, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,5 %	
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72

Гелий, очищенный	ТУ-51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцово-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота соляная, хч	ГОСТ 3118—77
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Флоризил (магния силикат, 99 %) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш.	

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$, и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренний диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, неподвижной фазой,	

содержащей 100 % диметилполисилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс., избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 дм^3/мин	
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см^3 и приемной конической колбой объемом 1 000 см^3	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие, диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ-6-09-1678—86

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 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 рабочей зоны не должно превышать нормы, установленные ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—91.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа и уложившиеся в нормативы контроля.

6. Условия измерений

Процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении; выполнение изме-

рений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с флоризилом для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с флоризилом, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцово-кислый калий из расчета 100 мг/дм^3. Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 ч.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С отбрасывают.

7.1.4. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5 %-го раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 ч. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Хлористый метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. Приготовление подкисленного ацетонитрила.

К необходимому объему ацетонитрила пипеткой добавляют концентрированную соляную кислоту до pH ≈ 1. При приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией ципроконазола 1,0 мг/см^3.

Взвешивают 50 мг ципроконазола в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике не более 6 месяцев.

7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией ципроконазола 10,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике не более месяца.

7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией ципроконазола 1,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией ципроконазола 0,5 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией ципроконазола 0,2 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией ципроконазола 0,1 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.2.7. Стандартные растворы ципроконазола с концентрацией 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы.

Методом последовательного разведения ацетоном стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3 ципроконазола и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации ципроконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.6. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения ципроконазола на ней

7.4.1. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г флоризила с зернением 60/100 меш. и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой флоризила

наносят слой безводного серно-кислого натрия толщиной 1 см. Колонку промывают 15 $см^3$ ацетона и высушивают.

Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 $см^3$ гексана.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения ципроконазола на колонке с флоризилом

В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора ципроконазола в ацетоне с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 4 $см^3$ гексана, перемешивают и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу последовательно обмывают 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, 5 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 2 : 3 и 6 порциями объёмом 5 $см^3$ каждая смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие ципроконазол, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюента.

Изучение поведения ципроконазола на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии флоризила.

8. Отбор проб и хранение

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, а также в соответствии с ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 17109—88 «Соя. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ Р 53510—09 «Масло соевое. ТУ», ГОСТ 8808—2000 «Масло кукурузное, ТУ», ГОСТ 22391—89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ Р 52465—05 «Масло подсолнечное.

ТУ», ГОСТ Р 53457—09 «Масло рапсовое, ТУ», ГОСТ Р 52062—03 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы зеленой массы кукурузы хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С до 2 лет.

Отобранные пробы зерна кукурузы, а также семян сои, подсолнечника и рапса подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы кукурузного, соевого, подсолнечного и рапсового масла хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 10 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Зеленая масса кукурузы

9.1.1. Экстракция

Образец измельченной зеленой массы кукурузы массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3. Ципроконазол экстрагируют 70 см^3 ацетонитрила, помещая пробы на аппарат для встряхивания проб на 30 мин. Экстракт фильтруют в плоскодонную колбу объемом 250 см^3 через фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 40 см^3 ацетонитрила и помещая пробу на аппарат для встряхивания проб на 30 мин. Из объединенного экстракта берут аликвоту $^1/_5$ часть в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, добавляют 5 см^3 ацетона, обмывают стенки концентратора, затем прибавляют 80 см^3 дистиллированной воды, перемешивают содержимое в концентраторе и переносят в делительную воронку объемом 250 см^3. Ципроконазол экстрагируют тремя порциями хлористого метилена по 40 см^3, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 мин. Хлористый метилен собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и полученный раствор наносят на подготовленную колонку. Исходную колбу последовательно обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1 и 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 2 : 3, элюаты отбрасывают. Ципроконазол элюируют с колонки 20 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 10 см^3 ацетона и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.2. Зерно кукурузы и семена рапса

9.2.1. Экстракция

Образец измельченного зерна кукурузы или семян рапса массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3. Ципроконазол экстрагируют 50 см^3 ацетонитрила, помещая пробы на аппарат для встряхивания проб на 30 мин. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 см^3 через фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 см^3 ацетонитрила и помещая пробу на аппарат для встряхивания проб на 30 мин. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 см^3 и упаривают до капель масла на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К остатку в концентраторе, полученному по п. 9.2.1, добавляют 5 см^3 ацетона и проводят очистку экстракта по п. 9.1.2.

Затем сухой остаток растворяют в 40 см^3 ацетонитрила и переносят содержимое в делительную воронку объемом 250 см^3. Добавляют в делительную воронку 20 см^3 гексана и встряхивают пробу 2 мин. Нижний (ацетонитрильный слой) собирают в плоскодонную колбу объемом 250 см^3. Гексан отбрасывают. Ацетонитрил возвращают в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки еще раз, используя 20 см^3 гексана. Ацетонитрил собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.3.

Сухой остаток проб зерна кукурузы растворяют в 5 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Сухой остаток проб семян рапса растворяют в 10 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Семена подсолнечника

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных семян подсолнечника массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$. Ципроконазол экстрагируют 50 $см^3$ ацетона, помещая пробы на аппарат для встряхивания проб на 15 мин. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$ через фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют еще раз, используя 50 $см^3$ ацетона и помещая на аппарат для встряхивания проб на 15 мин. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и упаривают до капель масла на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по пп. 9.2.2, 9.1.3.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.4. Семена сои

9.4.1. Экстракция

Образец измельченных семян сои массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$. Ципроконазол экстрагируют 50 $см^3$ подкисленного ацетонитрила, помещая пробы на аппарат для встряхивания проб на 30 мин. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$ через фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ подкисленного ацетонитрила и помещая пробы на аппарат для встряхивания проб на 30 мин. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и упаривают до капель масла на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по пп. 9.2.2, 9.1.3.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.5. Масло кукурузы, подсолнечника, рапса и сои

9.5.1. Экстракция и очистка полученного экстракта в системе несмешивающихся растворителей

Из пробы кукурузного (подсолнечного, рапсового или соевого) масла отбирают в стакан навеску массой 10 г и помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$. Навеску растворяют в 50 $см^3$ гексана, добавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и экстрагируют ципроконазол 15 мин на аппарате для встряхивания проб. Затем экстракт переносят в делительную воронку и после полного разделения слоев нижний (ацетонитрильный) слой собирают в плоскодонную колбу объемом 250 $см^3$, а гексановый слой возвращают в полипропиленовую банку для экстракции. Повторяют экстракцию еще два раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ ацетонитрила и встряхивая смесь по 15 мин на аппарате для встряхивания проб.

Объединенный ацетонитрильный экстракт из плоскодонной колбы переносят в чистую полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, добавляют к нему 30 $см^3$ гексана и помещают на 10 мин на аппарат для встряхивания проб. Затем экстракт переносят в делительную воронку и после полного разделения слоев нижний (ацетонитрильный) слой собирают в концентратор и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе до капель масла при температуре водяной бани не выше 30 °С. Верхний гексановый слой отбрасывают.

Далее проводят очистку экстракта по пп. 9.2.2, 9.1.3.

Сухой остаток проб кукурузного масла растворяют в 5 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Сухой остаток проб подсолнечного и соевого масла растворяют в 2 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Сухой остаток проб рапсового масла растворяют в 10 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.6. Условия хроматографирования

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренний диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, неподвижной фазой, содержащей 100 % диметилполисилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм.

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее

обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Температура детектора – 320 °С, поток обдува анода (азот) – 6,0 $см^3$/мин, поток поддува – 58,0 $см^3$/мин.

Температура испарителя – 260 °С, тип газа гелий, режим Split, давление 31,98 psi, деление потока 10 : 1, split-поток 20,0 $см^3$/мин.

Программированный нагрев колонки с 210 °С (выдержка 15 мин) по 10 град/мин до 260 °С (выдержка 5 мин), режим постоянный поток, поток колонки 2,0 $см^3$/мин, средняя скорость 49 см/с.

Абсолютное время удерживания ципроконазола: 5,683 мин ± 3 %.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,1—1,0 нг.

10. Обработка результатов анализа

Содержание ципроконазола в пробах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P \text{, где}$$

X – содержание ципроконазола в пробе, мг/кг или мг/$дм^3$;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, Hz;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, Hz;

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

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

m – масса анализируемого образца, г;

P – содержание ципроконазола в аналитическом стандарте, %.

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 или мг/$дм^3$;

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

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:

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

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

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

«*содержание вещества в пробе менее 0,02 мг/кг*».*

* – 0,02 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики 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.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для ципроконазола проводят в начале и по окончании каждой серии анализов, а также при смене основных градуировочных растворов:

– № 1 – каждые 6 месяцев;

– № 2 – каждый месяц;

– № 3, 4, 5 и 6 – каждые 14 дней.

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

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \leq 1{,}60 \text{, где}$$

X – концентрация ципроконазола контрольного измерения, мкг/см^3;

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

1,60 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 1,60 %, 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 ципроконазола, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

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 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:

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

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

Результат контроля 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 и 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 предел 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 в двух разных лабораториях, мг/кг;

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

Приложение 1

Полнота извлечения ципроконазола из зеленой массы, зерна и масла кукурузы, семян и масла подсолнечника, рапса и сои (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено ципроконазола, мг/кг	Обнаружено ципроконазола, мг/кг	Полнота определения, %
Зеленая масса кукурузы	5,0	4,0274 ± 0,0720	80,5
	2,5	2,0432 ± 0,0708	81,7
	1,0	0,8260 ± 0,0245	82,6
	0,5	0,4065 ± 0,0115	81,3
Зерно кукурузы	0,50	0,4363 ± 0,0092	87,3
	0,25	0,2198 ± 0,0079	87,9
	0,10	0,0861 ± 0,0019	86,1
	0,05	0,0430 ± 0,0007	86,1
Масло кукурузы	0,50	0,3928 ± 0,0184	78,6
	0,25	0,1815 ± 0,0057	72,6
	0,10	0,0792 ± 0,0022	79,2
	0,05	0,0396 ± 0,0017	79,2
Семена подсолнечника	0,20	0,1644 ± 0,0066	82,2
	0,10	0,0813 ± 0,0027	81,3
	0,04	0,0327 ± 0,0011	81,8
	0,02	0,0164 ± 0,0006	82,1
Масло подсолнечника	0,2	0,1536 ± 0,0086	76,8
	0,1	0,0796 ± 0,0023	79,6
	0,04	0,0315 ± 0,0014	78,9
	0,02	0,0157 ± 0,0006	78,4
Семена рапса	1,0	0,8181 ± 0,0188	81,8
	0,5	0,4275 ± 0,0147	85,5
	0,2	0,1656 ± 0,0035	82,8
	0,1	0,0828 ± 0,0013	82,8
Масло рапса	1,0	0,8382 ± 0,0137	83,8
	0,5	0,4161 ± 0,0171	83,2
	0,2	0,1721 ± 0,0061	86,0
	0,1	0,0842 ± 0,0018	84,2
Семена сои	0,20	0,1601 ± 0,0009	80,1
	0,10	0,0807 ± 0,0012	80,7
	0,04	0,0319 ± 0,0010	79,8
	0,02	0,0157 ± 0,0004	78,4
Масло сои	0,20	0,1654 ± 0,0061	82,7
	0,10	0,0815 ± 0,0016	81,5
	0,04	0,0324 ± 0,0007	81,0
	0,02	0,0166 ± 0,0006	82,9

Определение остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, в семенах и масле подсолнечника, рапса и сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3094—13

Редактор Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 11.10.13

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5
Тираж 200 экз. Заказ 61

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 (495)952-50-89

gost.e-ecolog.ru