Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств действующих веществ пестицидов в овощах, цитрусовых, плодовых, ягодах и орехах

**Сборник методических указаний
по методам контроля
МУК 4.1.2986—12; 4.1.2989—12; 4.1.2993—12;
4.1.2996—12; 4.1.3006—12**

Издание официальное

Москва • 2012

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 действующих веществ пестицидов в овощах, цитрусовых, плодовых, ягодах и орехах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2986—12; 4.1.2989—12; 4.1.2993—12; 4.1.2996—12; 4.1.3006—12

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств действующих веществ пестицидов в овощах, цитрусовых, плодовых, ягодах и орехах: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.—72 с.

ISBN 978—5—7508—1157—1

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

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

3. Введены в действие с момента утверждения.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

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

Подписано в печать 21.12.12

Формат 60x88/16 Печ. л. 4.5

Тираж 200 экз. Заказ 80

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

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

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

Содержание

Определение остаточных количеств кломазона в капусте методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2986—12 4
Определение остаточных количеств ципродинила в томатах методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2989—12 15
Определение остаточных количеств клофентезина в цитрусовых методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2993—12 27
Определение остаточных количеств флуопирама в плодовых семечковых (яблоня, груша), плодовых косточковых (персик, нектарин, абрикос, вишня, слива), ягодах (клубника), томатах, перце, огурцах, бананах, винограде, виноградном соке, орехах методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2996—12 41
Определение остаточных количеств ципродинила в моркови методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.3006—12 59

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флуопирама в плодовых семечковых (яблоня, груша), плодовых косточковых (персик, нектарин, абрикос, вишня, слива), ягодах (клубника), томатах, перце, огурцах, бананах, винограде, виноградном соке, орехах методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2996—12

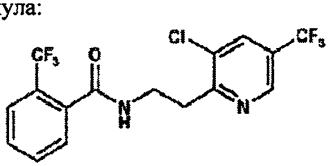
Свидетельство об аттестации МВИ от 25.11.2011 № 0108.25.11.11.

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения остаточных количеств флуопирама в плодовых семечковых (яблоня, груша), плодовых косточковых (персик, нектарин, абрикос, вишня, слива), ягодах (клубника), томатах, перце, огурцах, бананах, винограде, виноградном соке, орехах в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Название вещества по ИСО: флуопирам.

Название вещества по ИЮПАК: N-{2-[3-хлор-5(трифторметил)-2-пиридил]этил}-α,α,α-трифтор-*о*-толуамид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{11}ClF_6N_2O$.

Молекулярная масса 396,72.

Белое кристаллическое вещество без запаха. Плотность 1,53 (при 20 °С). Температура плавления 117,5 °С. Давление паров $3,1 \times 10^{-3}$ мПа (при 25 °С). Растворимость в органических растворителях при 20 °С (г/дм^3): ацетон – > 250; диметилсульфоксид – > 250; дихлорметан – > 250; н-гептан – 0,66; метанол – > 250; толуол – 62,2; этилацетат – > 250. Растворимость в воде при 20 °С (мг/дм^3): 16,0. Коэффициент распределения н-октанол/вода K_{ow} log$P$ = 3,3 (40 °С). Стабилен в водной среде при pH 4—9. pK_a = 0,5 при 23 °С.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – > 5 112 мг/дм^3 (4 ч).

Область применения

Флуопирам – системный фунгицид широкого спектра действия, относится к классу пиридинэтиланилидов, эффективен против поверхностной и внутренней семенной инфекции, защищает проростки от плесневения, почвенных патогенов и аэрогенной инфекции.

1. Погрешность измерений

При соблюдении всех регламентируемых условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерения при доверительной вероятности P = 0,95 не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ± δ, % P = 0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
1	2	3	4	5	6
Плодовые семечковые	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,5	14	20
Плодовые косточковые	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,1	12	17
Ягоды (клубника)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	14	20

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
Томаты	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,9	11	15
Перец	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,2	12	17
Огурцы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,2	12	17
Бананы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	14	20
Виноград	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,9	11	20
Виноградный сок	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,7	10	14
Орехи	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,3	13	18

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	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Плодовые семечковые	0,01	0,01—0,1	89,0	3,4	1,8
Плодовые косточковые	0,01	0,01—0,1	88,8	3,1	1,6
Ягоды (клубника)	0,01	0,01—0,1	88,1	3,6	1,9
Томаты	0,01	0,01—0,1	87,0	2,7	1,4
Перец	0,01	0,01—0,1	87,4	2,9	1,6
Огурцы	0,01	0,01—0,1	87,3	2,8	1,5
Бананы	0,01	0,01—0,1	87,2	3,4	1,8
Виноград	0,01	0,01—0,1	87,1	2,6	1,4
Виноградный сок	0,01	0,01—0,1	86,9	2,5	1,3
Орехи	0,01	0,01—0,1	85,5	3,1	1,7

2. Метод измерений

Методика основана на определении флуопирама с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронозахватным детектором (ЭЗД) после экстракции из анализируемых проб смесью ацетонитрил–вода, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с флоризилом. Пробы орехов дополнительно очищают окислением экстракта в щелочной среде.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный электоронозахватным детектором с пределом детектирования по линдану 5×10^{-14} г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	Номер в Госреестре СИ 14516—08
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—01
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,005 г	ГОСТ 24104—01
Колбы мерные 2-го класса точности, вместимостью 100, 200, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ 7328—01
Микропипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 0,1 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Микрошприц SGE-Cromatec, вместимостью 10 $мм^3$	Номер в Госреестре СИ 39206—08
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Флуопирам, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,4 %

аттестованное значение погрешности ± 1 % (CAS No 658066-35-4)	
Азот, осч (99,999 %), из баллона	ГОСТ 9293—74
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил, осч «УФ-210 нм»	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий марганцово-кислый (перманганат калия)	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (калия карбонат, поташ) безводный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид), насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота серная (концентрированная), хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—84
Натрий серно-кислый (сульфат) безводный, хч	ГОСТ 4166—78
Натрий углекислый (карбонат), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый (хлорид), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-06-657—84
Флоризил, для колоночной хроматографии (60—100 меш) фирм «SERVA», «MERK» (Германия) или аналогичный	
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-7173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты, ректификованный (этилацетат)	ГОСТ 22300—76

Примечание. Возможно использование реактивов иных производителей более высокой квалификации, которые не требуют выполнения п. 7.1 (очистка растворителей).

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с или орбитальный шейкер OS-10, диапазон регулировки оборотов 50—200 об./мин, орбита до 10 мм	ТУ 64-1-2851—78
Баня водяная	
Баня ультразвуковая	
Барометр-анероид с диапазоном измерений от 79,5 до 106,5 и ценой деления 0,1 кПа, типа М-98	ТУ 25-11-1316—76
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 2642-001-05015242—07

Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %, типа ВИТ-2	ТУ 25-11-1645—84
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Гомогенизатор бытовой	
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 400—500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 100, 150 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 В-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Стаканы химические с носиком, вместимостью 100, 150 и 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 колонка капиллярная НР-35, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм	

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

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—2009, а также требования, изложенные в технической документации на 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 ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07. 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 специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на газовом хроматографе, освоивших данную методику и подтвердивших экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности 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 и раствора внесения, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции и очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с флоризилом, проверка хроматографического поведения флуопирама на ней.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Гексан

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

7.1.2. Этилацетат

7.1.2.1. 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.

7.1.2.2. Очистка растворителей. Растворитель 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.

7.1.3. Ацетонитрил

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

7.1.4. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством $KMnO_4$ и безводным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.2. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.2.1. Исходный раствор флуопирама для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,01 г флуопирама, растворяют в 50—60 см^3 этилацетата, доводят этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

7.2.2. Раствор № 1 флуопирама для градуировки (концентрация 5,0 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 5,0 см^3 исходного раствора флуопирама с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.2.1), разбавляют этилацетатом до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

7.2.3. Рабочие растворы № 2—5 флуопирама для градуировки (концентрация 0,005—0,05 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 5,0 мкг/см^3 (п. 7.2.2), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрациями флуопирама 0,005; 0,01, 0,025 и 0,05 мкг/см^3.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 14 дней.

7.2.4. Рабочий раствор № 6 флуопирама для внесения (концентрация 0,5 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 5,0 мкг/см^3 (п. 7.2.2), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочий растворы № 6 с концентрацией флуопирама 0,5 мкг/см^3.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 14 дней.

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

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика (мВ · с) от концентрации флуопирама в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков (мВ · с) флуопирама.

7.4. Приготовление смеси ацетонитрил–вода для экстракции (объемное соотношение 9 : 1)

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 100 см^3 дистиллированной воды, доводят до метки ацетонитрилом, перемешивают.

7.5. Приготовление смесей гексан–этилацетат для очистки экстрактов на колонке с флоризилом

7.5.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2). В мерную колбу вместимостью 200 см^3 помещают 40 см^3 этилацетата, доводят до метки гексаном, перемешивают.

7.5.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 6 : 4). В мерную колбу вместимостью 200 $см^3$ помещают 80 $см^3$ этилацетата, доводят до метки гексаном, перемешивают.

7.6. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г флоризила в 20 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия массой 1 г. Колонка готова к работе.

7.7. Проверка хроматографического поведения флуопирама на колонке с флоризилом

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ раствора № 1 для градуировки с концентрацией флуопирама 5,0 $мкг/см^3$ (п. 7.2.2), добавляют 0,4 $см^3$ этилацетата, затем 5 $см^3$ гексана, перемешивают и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды гексаном по 2,5 $см^3$, которые также наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 30 $см^3$ гексана, 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2 по объему), элюаты отбрасывают.

Затем колонку промывают 60 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (6 : 4 по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 15 $см^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ этилацетата, анализируют по п. 9.5.

Фракции, содержащие флуопирам, объединяют и вновь анализируют.

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

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

7.8. Приготовление раствора гидроксида калия с молярной концентрацией 2 моль/$дм^3$ (2 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 250 $см^3$ помещают 28 г гидроксида калия, растворяют в 100—150 $см^3$ деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.9. Приготовление раствора марганцово-кислого калия с массовой долей 0,1 % (0,1 %-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,1 г марганцово-кислого калия, растворяют в 50—70 $см^3$ деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ: *плодовые семечковые культуры*: 16270—70 «Яблоки свежие ранних сортов созревания», Технические условия», 21122—75 «Яблоки свежие поздних сортов созревания. Технические условия», 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки», 21713—76 «Груши свежие ранних сортов созревания. Технические условия», 21714—76 «Груши свежие поздних сортов созревания. Технические условия»; *плодовые косточковые культуры:* 21832—76 «Абрикосы свежие. Технические условия», 21833—76 «Персики свежие. Технические условия», 21921—76 «Вишня свежая. Технические условия», 21920—76 «Слива и алыча крупноплодная свежие. Технические условия»; *клубника:* 6828—89 «Земляника свежая. Требования при заготовках, поставках и реализации»; *овощные культуры*: 1725—85 «Томаты свежие. Технические условия», Р 51810—2001 «Томаты свежие, реализуемые в розничной торговой сети. Технические условия», 1726—85 «Огурцы свежие. Технические условия», 13908—68 «Перец сладкий свежий. Технические условия»; *виноград:* 28472—90 «Виноград свежий ручной уборки для консервирования. Требования при заготовках и поставках», 25896—83 «Виноград свежий столовый. Технические условия»; *виноградный сок:* 26313—84 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб»; *орехи*: 16525—70 «Орехи каштана съедобного», 16830—71 «Орехи миндаля сладкого. Технические условия», 16831—71 «Ядро миндаля сладкого. Технические условия», 16832—71 «Орехи грецкие. Технические условия», 16833—71 «Ядро ореха грецкого. Технические условия», 16834—71 «Орехи фундука. Технические условия», 16835—71 «Ядро орехов фундука. Технические условия», 17111—88 «Арахис. Требования при заготовках и поставках», 5531—70 «Орехи лещины», Р 53216—08 «Орехи фисташковые неочищенные. Технические условия», 29048—91 «Пряности. Мускатный орех. Технические условия», Р 52827—07 «Орехи кедровые очищенные. Технические условия» и Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (от 21.08.79 № 2051—79).

Отобранные пробы плодовых семечковых, плодовых косточковых, клубники, огурцов, томатов, перца, бананов, ягод винограда, орехов хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике в темноте не более 5 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Пробы виноградного сока анализируют в день изготовления.

Перед анализом образцы измельчают с помощью гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Плоды косточковых, семечковых культур, томатов, огурцов, перца, ягоды (клубника), ягоды винограда, бананы, орехи

Измельченный образец массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, вносят 50 см^3 смеси ацетонитрил–вода (9 : 1, по объему), помещают на встряхиватель на 40 мин. Полученный экстракт (надосадочная жидкость) осторожно декантируют, фильтруют на воронке Бюхнера через двойной бумажный фильтр «красная лента» под вакуумом. Осадок на фильтре возвращают в колбу и повторяют экстракцию дополнительной порцией смеси ацетонитрил–вода (9 : 1, по объему) объемом 30 см^3, выдерживая на встряхивателе 5 мин. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через бумажный фильтр «красная лента», осадок на фильтре промывают 20 см^3 этой же смеси, объединенный экстракт переносят в мерный цилиндр на 250 см^3.

Доводят общий объем раствора в цилиндре до 200 см^3 смесью ацетонитрил–вода (9 : 1, по объему), перемешивают. Аликвоту раствора объемом 20 см^3 (соответствующую 2 г анализируемого образца) переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 см^3, добавляют 15 см^3 бидистиллированной воды, концентрируют на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С до водного остатка (около 20 см^3) и подвергают очистке по п. 9.2.

9.1.2. Виноградный сок

К образцу сока массой 20 г, находящемуся в конической колбе (с пришлифованной пробкой) вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 ацетонитрила, интенсивно встряхивают в течение 5 мин, помещают в холодильник (4 °С) на 1 ч. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера через двойной бумажный фильтр «красная лента» под вакуумом, дважды промывая остаток на фильтре 20 см^3 ацетонитрилом. Полученный экстракт переносят в мерный цилиндр на 250 см^3.

Доводят общий объем раствора в цилиндре до 200 см^3 ацетонитрилом, перемешивают. Аликвоту раствора объемом 20 см^3 (соответствующую 2 г анализируемого образца) переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 см^3, добавляют 20 см^3 бидистиллированной воды, концентрируют на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С до водного остатка (около 20 см^3) и подвергают очистке по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водный остаток, полученный по п. 9.1.1 или 9.1.2, переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Колбу ополаскивают 80 см^3 бидистиллированной воды, которую также переносят в делительную воронку. Вносят в воронку 20 см^3 насыщенного водного раствора хлористого натрия, 30 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После полного разделения фаз верхний органический слой отделяют, фильтруя через безводный сульфат натрия (5 г), помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3. Водную фракцию возвращают в делительную воронку и операцию экстракции повторяют дважды новыми порциями гексана объемом 30 см^3, встряхивая в течение 5 мин. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С до объема 0,5—1,0 см^3 и подвергают дополнительной очистке на колонке по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

К остатку в круглодонной колбе, полученному по п. 9.2, добавляют 0,5 см^3 этилацетата и 5 см^3 гексана, перемешивают. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды гексаном порциями по 2,5 см^3, которые также наносят на колонку, скорость прохождения растворителя через колонку 1—2 капли в секунду. Промывают колонку последовательно 30 см^3 гексана, 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2 по объему), элюаты отбрасывают.

Флуопирам элюируют с колонки 45 см^3 смеси гексан–этилацетат (6 : 4, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. При анализе проб плодовых семечковых (яблоня, груша), плодовых косточковых (персик, нектарин, абрикос, вишня, слива), ягод (клубника), томатов, перца, огурцов, бананов, винограда, виноградного сока сухой остаток растворяют в 4 см^3 этилацетата и анализируют на содержание флуопирама в условиях хроматографирования по п. 9.5. Пробы орехов дополнительно очищают окислением и перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.4.

9.4. Очистка экстракта окислением и перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

При анализе проб орехов остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.3, растворяют в 20 см^3 гексана, выдерживая 30 с на ультра-

звуковой бане, переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, колбу обмывают 10 $см^3$ гексана, растворы объединяют в воронке. Добавляют 10 $см^3$ 2 М водного раствора КОН и 5 $см^3$ 0,1 %-го водного раствора $KMnO_4$, интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 3 мин, нижний водный слой отбрасывают, верхний гексановый слой собирают, фильтруя через безводный сульфат натрия, помещенный на бумажном фильтре «красная лента» в конусной воронке, и переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$.

К гексановому раствору в воронке добавляют 30 $см^3$ ацетонитрила, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, собирая в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Экстракцию повторяют дважды порциями ацетонитрила по 25 и 20 $см^3$.

Объединенный ацетонитрильный экстракт упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С.

Сухой остаток растворяют в 4 $см^3$ этилацетата и анализируют на содержание флуопирама в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф, снабженный электронозахватным детектором.

Колонка капиллярная HP-35, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм.

Температура: – детектора: 300 °С;

– испарителя: 260 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 160 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 25 °С в минуту до температуры 235 °С, затем нагрев колонки со скоростью 3 °С в минуту до температуры 250 °С, затем нагрев колонки со скоростью 20 °С в минуту до температуры 270 °С, выдержка 9 мин.

Газ 1 (азот): давление 72,1 кПа, 32,5 см/с, поток 1,5 $см^3$/мин.

Газ 2: деление потока 1 : 3; сброс 4,5 $см^3$/мин.

Ориентировочное время выхода флуопирама ~ 12,8 мин.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,005—0,05 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор флуопирама с концентрацией 0,05 мкг/$см^3$, разбавляют этилацетатом (не более чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

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

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

X – содержание флуопирама в пробе, мг/кг;

A – концентрация флуопирама, 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;

K – коэффициент, учитывающий объем аликвоты экстракта, взятый для анализа, (равен 10).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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 выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ или 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 флуопирама в пробе менее 0,01 мг/кг».*

** – 0,01 мг/кг – предел обнаружения флуопирама в плодовых семечковых (яблоня, груша), плодовых косточковых (персик, нектарин, абрикос, вишня, слива), ягодах (клубника), овощных культурах (томаты, перец, огурцы), бананах, винограде и виноградном соке, орехах.*

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание флуопирама в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,005 до 0,05 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{(X - C)\cdot 100}{C} \leq 6, \text{ где}$$

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

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

6 % – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 6 %, 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 флуопирама, 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 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;

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

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, 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

$$|K_к| \leq K, \qquad (2)$$

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)

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

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

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

14. Разработчики

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

gost.e-ecolog.ru