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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств каптана в яблочном соке методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2455—09

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств каптана в яблочном соке методом газожидкостной хроматографии. Методические указания:—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—15 с.

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов», Минсельхоза России (В. А. Калинин, профессор, канд. с-х. наук, Т. С. Калинина, ст. н. сотр., канд.с-х. наук).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 декабря 2008 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 2 февраля 2009 г.

4. Введены в действие с 29 апреля 2009 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

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

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
2 февраля 2009 г.
Дата введения: 29 апреля 2009 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств каптана в яблочном соке методом газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.2455—09

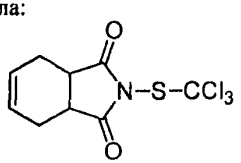
Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств каптана в яблочном соке в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Краткая характеристика препарата

Название действующего вещества по ИСО: Каптан.

Название действующего вещества по ИЮПАК: 1,2,5,6-Тетрагидро-N-трихлорметилтиофталимид.

Структурная формула:



$C_9H_8Cl_3NO_2S$
Мол. масса: 300,6

Агрегатное состояние: кристаллическое вещество.

Цвет, запах: белое вещество, почти без запаха.

Температура плавления: 178 °С.

Летучесть (давление паров): < 1,3 мПа (при 25 °С).

Растворимость: в воде 3,3 мг/дм^3 (при 25 °С); в органических растворителях при 26 °С (г/дм^3): ксилоле – 20; толуоле – 6,9; хлороформе – 70; ацетоне – 21, циклогексаноне – 23; диоксане – 47; бензоле – 21; изопропаноле – 1,7; этаноле – 2,9; диэтиловом эфире – 2,5. Коэффициент перераспределения в системе октанол:вода: K_{ow} log$P$ – 2,8.

Стабильность в водных растворах: медленно гидролизуется в нейтральной среде, быстро разрушается в щелочной среде: DT_{50} – 32,4 ч (pH 5); DT_{50} – 8,3 ч (pH 7), < 2 мин (pH 10). Разрушается при нагревании до температуры плавления.

Краткая токсикологическая характеристика

Каптан относится к малоопасным веществам по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс – 9 000 мг/кг), дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов более 4 500 мг/кг), но к опасным по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс – 668 мг/м^3). Может вызывать раздражение кожи с сенсибилизацией и слизистых оболочек глаз, имеются ограниченные сведения о канцерогенном эффекте в опытах на животных.

В России для каптана установлены следующие гигиенические нормативы: ПДК в воде водоемов санитарно-бытового пользования – 0,2 мг/дм^3; в воде рыбо-хозяйственных водоемов – 0,0006 мг/дм^3; в почве – 1 мг/кг; в воздухе рабочей зоны – 0,3 мг/м^3.

МДУ в продукции (мг/кг): содержание вещества в овощах, фруктах, ягодах, винограде, картофеле, бахчевых культурах не допускается.

Область применения

Каптан – не системный фунгицид с защитным и лечебным действием. Используется путем опрыскивания в период вегетации для борьбы с болезнями яблони и груши (парша), косточковых (клястероспориоз), земляники (пятнистость), картофеля и томатов (фитофтороз и альтернариоз) и других культур. Нормы расхода (в кг/га) на яблоне и груше 3,75—5; на абрикосах, вишне, персиках, сливе, черешне 2,5—3,5; на малине, крыжовнике, смородине 1,5—1,75; на томатах и картофеле, бахчевых 1,5—2; на землянике (до цветения и после сбора урожая) – 1,25; на виноградной лозе 2,5—3,75.

1. Метрологическая характеристика метода

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

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Яблочный сок	0,01—0,1	50	3,35	9	11

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определямых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Яблочный сок	0,01	0,01—0,10	86,11	0,75	1,35

2. Метод измерений

Метод основан на определении каптана методом газожидкостной хроматографии с использованием детектора постоянной скорости рекомбинации электронов после экстракции данных веществ из исследуемой пробы ацетонитрилом и очистки экстракта путем перераспределения в несмешивающихся жидкостях и с помощью колоночной хроматографии на флоризиле.

Идентификацию вещества проводят по времени удерживания путем сравнения с аналитическим стандартом, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается путем подбора колонки и изменения температуры колонки.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические Σ 11140 с пределом допустимой погрешности ± 0,0001 г, фирма «OHAUS»

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г V600, «ACCULAB»

Колбы мерные вместимостью 10, 50 и 100 $см^3$ ГОСТ 1770—74

Микрошприц Гамильтон, вместимостью 10 $мм^3$

Пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 $см^3$ ГОСТ 20292—74

Хроматограф газовый «Кристалл 2000м» с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по азоту в азобензоле 5×10^{-13} $г/см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки

Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100 и 250 $см^3$ ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Аналитический стандарт каптана, содержание основного вещества 98,7 % фирмы Мактешим Аган Индастриз Лтд

Азот особой чистоты ГОСТ 9293

Ацетонитрил, хч ТУ 6-09-06-1092—83

Вода дистиллированная ГОСТ 7602—72

Гексан ч. ТУ 6-09-3375

Натрий хлористый чда, водный раствор массовой концентрации 40 $г/дм^3$ ГОСТ 4233

Флоризил для колоночной хроматографии с размером частиц 60—80 меш, фирма «Агрос Органикс», Бельгия, код 205450010

Хлористый метилен, хч ГОСТ 19433—88

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аппарат для встряхивания проб TYP LT1 фирмы «SKLO UNION»	
Банки с крышками для экстракции на 250 см^3, полипропилен, кат.№3120-0250, NALGENE	
Воронки химические для фильтрования, стеклянные	ГОСТ 8613—75
Воронки делительные на 250 см^3	ГОСТ 10054—75
Испаритель ротационный вакуумный ИР-1М	ТУ 25-11917
Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней B-480	
Концентраторы грушевидные на 100 и 250 см^3, НШ 29 КГУ – 100 (250)	ГОСТ 10394—72
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая HP-5 длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирма J&W Scientific	
Насос вакуумный диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport	
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6-09-2678—77

Допускается применение хроматографических колонок и другого 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, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно-допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

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

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %.

• выполнение измерений на газожидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению определений

7.1. Подготовка растворителей

Все растворители используют свежеперегнанными. Перегонку растворителей проводят, строго отбирая фракцию, соответствующую по температуре кипения основному веществу.

7.2. Приготовление стандартных и градуировочных растворов каптана

Основной раствор каптана готовят, количественно перенося навеску вещества массой по 100 мг в мерные колбы вместимостью 100 $см^3$. В колбы вносят 20 $см^3$ ацетона, содержимое колб перемешивают до полного растворения кристаллов каптана. Объем раствора в колбах доводят до метки ацетоном, после чего содержимое колб тщательно перемешивают. Получают раствор каптана массовой концентрации 1 $мг/см^3$ (раствор № 1), который может храниться не более 1 месяца.

Методом последовательного разбавления раствора № 1 ацетоном в мерных колбах готовят рабочие растворы с концентрациями каптана 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 $мкг/см^3$, которые могут храниться в холодильнике не более 10 суток.

Основной и градуировочные растворы каптана хранят в холодильнике.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации каптана в растворе устанавливают методом абсолютной калибровки по стандартным растворам с концентрациями 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см^3.

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора каптана и хроматографируют в условиях п. 9.2. Проводят не менее 3 параллельных измерений и находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. По полученным данным строят градуировочный график зависимости площади хроматографического пика в мВ от концентрации каптана в растворе в мкг/см^3

7.4. Подготовка колонки для очистки экстракта

В пластмассовую колонку длиной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно чистую стекловату и заполняют колонку 5 г флоризила 60/100 меш, уплотняя его путем вибрации колонки. На слой флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. Флоризил в колонке промывают 15 см^3 ацетона, ацетон под давлением удаляют из колонки. Затем колонку промывают 15 см^3 гексана.

7.5. Проверка хроматографического поведения каптана на колонке для очистки экстракта

Хроматографическое поведение каптана проверяют каждый раз при использовании новой партии флоризила. В стаканчик помещают 1 см^3 стандартного раствора каптана с концентрацией 0,1 мкг/см^3, добавляют 9 см^3 гексана, перемешивают содержимое и наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 10 см^3 гексана и 5 см^3 смеси гексан–ацетон – 4 : 1, смывы отбрасывают.

Пропускают через колонку 4 порции смеси гексан–ацетон (1 : 1) по 5 см^3 каждая, собирая их в отдельные концентраторы. Собранные фракции выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона и вводят в хроматограф 1 мм^3 пробы. Фракции, содержащие каптан, объединяют, выпаривают досуха, сухой остаток вновь растворяют в 1 см^3 ацетона и вводят в хроматограф 1 мм^3 пробы. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смыва с колонки и необходимый для очистки объем элюата.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.79 г., а также с ГОСТ 656—76 – «Плодовый сок, ТУ».

Пробы соков хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре +4 °С не более 10 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Яблочный сок

9.1.1. *Экстракция каптана из анализируемой пробы и предварительная очистка.*Навеску сока 10 г разводят 10 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия и переносят в делительную воронку. Добавляют в воронку 50 см^3 ацетонитрила и встряхивают содержимое воронки в течение 1—2 мин. После разделения слоев нижний водный слой переливают в стаканчик, а слой ацетонитрила – в концентратор емкостью 250 см^3. Водную фракцию из стаканчика переносят в делительную воронку, добавляют в воронку 30 см^3 ацетонитрила и экстрагируют каптан, как указано выше. Экстракцию повторяют еще раз с тем же объемом ацетонитрила.

Объединенный экстракт ацетонитрила выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 35 °С до объема 1—2 см^3. Остаток в концентраторе разводят 100 см^3 2%-го раствора Na_2SO_4 и переносят в делительную воронку емкостью 250 см^3.

Добавляют в воронку 30 см^3 хлористого метилена и встряхивают воронку в течение 1—2 мин. После разделения слоев нижний слой хлористого метилена сливают в концентратор, пропуская через безводный сернокислый натрий. Повторяют экстракцию еще два раза, используя каждый раз по 30 см^3 хлористого метилена. Хлористый метилен выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе.

9.1.2. *Очистка экстракта на колонке с флоризилом.* Сухой остаток в концентраторе разводят в 1 см^3 ацетона, добавляют 9 см^3 гексана, обмывают смесью стенки концентратора и переносят его содержимое на колонку с флоризилом. Колонку промывают последовательно 10 см^3 гексана и 5 см^3 смеси гексан–ацетон – 4 : 1, смывы отбрасывают. Фолпет элюируют с колонки 15 см^3 смеси гексан–ацетон (1 : 1). Элюат собирают в концентратор емкостью 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном

вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток в концентраторе разводят в 1 $см^3$ ацетона и вводят в хроматограф 1 $мм^3$кл пробы.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматограф «Кристалл 2000.М» с детектором по захвату электронов (ЭЗД) с пределом детектирования по Линдану 4×10^{-14} г/$см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки или другой с аналогичными характеристиками.

Капиллярная кварцевая колонка НР-5 (5 % дифенил и 95 % диметилполисилоксан), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура термостата колонки программированная: начальная температура – 160 °С, нагрев колонки по 6 °С в минуту до 220 °С. Нагрев колонки после анализа по 25 °С в минуту до 260 °С, выдержка 3 мин. Температура испарителя – 230 °С, детектора – 320 °С.

Регулятор расхода гелия – РРГ-11; режим Split less.

Газ 1 – гелий (газ-носитель), расход гелия – 1 $см^3$/мин, сброс 1 : 50, начало сброса – 20 с, длительность сброса – 2 мин.

Газ 2 – гелий, линейная скорость – 28 см/с, давление на входе – 38,21 кПа;

Газ 3 – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 45 $см^3$/мин. Расход азота при продувке детектора после анализа – 65 $см^3$/мин.

Абсолютное время удерживания каптана – 6 мин 08 с—6 мин 14 с.

Объем вводимой пробы – 1 $мм^3$.

Минимально детектируемое количество Каптана в анализируемом объеме – 0,01 нг

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,01—0,1 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика.

Образцы, дающие пики больше, чем стандартный раствор с концентрацией каптана 0,1 мкг/$см^3$ соответственно, разбавляют.

10. Обработка результатов анализа

Для определения содержания каптана в пробах методом ГЖХ используют следующую формулу:

$$X = \frac{S_{ПР} \times A \times V}{100 \times S_{СТ} \times m} \times P, \text{ где}$$

X – содержание каптана в пробе, мг/кг;
S_{CT} – площадь пика стандарта, мВ;
$S_{ПР}$ – площадь пика образца, мВ;
A – концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;
V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;
m – масса анализируемого образца, г;
P – содержание каптана в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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 0,01мг/кг»**
**- 0,01 мг/кг – предел обнаружения.*

13. Контроль качества результатов измерений

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

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm\Delta_{л,\overline{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\overline{X'}}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/кг, при этом:

$$\Delta_л = \pm 0{,}84\Delta, \text{ где}$$

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_К = \overline{X'} - \overline{X} - C_д, \text{ где}$$

$\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ – 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:

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

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

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

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

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

14. Разработчики

Калинин В. А., Калинина Т. С. Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева.

Приложение

Доверительный интервал и полнота определения каптана в виноградном соке

Анализируемый объект	Добавлено каптана, мг/кг	Обнаружено каптана, мг/кг	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
Сок винограда	0,01	0,0087	0,0002	86,8
	0,02	0,0172	0,0008	85,8
	0,05	0,0427	0,0025	85,4
	0,1	0,0865	0,0041	86,5

Определение остаточных количеств каптана в яблочном соке методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2455—09

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 31.07.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 200 экз.

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

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

gost.e-ecolog.ru