Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств лямбда-цигалотрина в яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2380—08

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. *Методы контроля. Химические факторы*

Определение остаточных количеств лямбда-Цигалотрина в яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания

МУК 4.1.2380-08

ББК 51.21
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств лямбда-Цигалотрина в яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 – 12 с.

1 Разработаны Российским Государственным Аграрным Университетом – МСХА имени К.А. Тимирязева (Калинин В.А , Калинина Т.С., Рыбакова О.И)

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно – гигиеническому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 3 апреля 2008 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 2 июля 2008 г.

4. Введены в действие с 2 сентября 2008 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 0,75

Тираж 200 экз

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

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

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

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный Государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г.Г. Онищенко
2 июля 2008 г.
Дата введения· 2 сентября 2008 г.

4.1.Методы контроля. Химические факторы

Определение остаточных количеств лямбда-цигалотрина в яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1. 2380-08

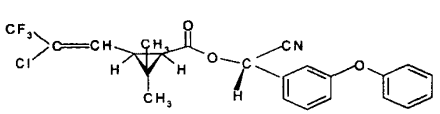
Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации лямбда-Цигалотрина в соке яблок и винограда в диапазоне 0,01-0,1 мг/кг.

Название действующего вещества по ИСО: лямбда-Цигалотрин.

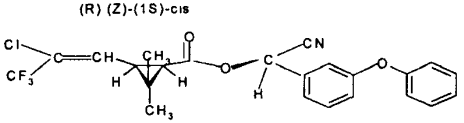
Название по ИЮПАК: (S,R)-α-циано-3-феноксибензил (1R,1S)-цис-3-(2-хлор-3,3,3-трифторпропенил)-2,2 диметилциклопропанкарбоксилат (1·1).

Структурная формула:

(S) (Z)-(1R)-cis-



(R) (Z)-(1S)-cis



Эмпирическая формула: $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$.

Молекулярная масса: 449,9.

Агрегатное состояние: паста.

Цвет, запах: бесцветная.

Давление насыщенного пара: 0,001 мПа при 20°С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода при 20°С: K_{ow} logP = 7.

Растворимость в воде при 20°С – 0,005 мг/дм^3 (pH 6,5).

Растворимость в органических растворителях г/дм^3: ацетоне, гексане, метаноле, толуоле, этилацетате > 500.

Устойчив на свету. Стабилен при хранении в течение 6 месяцев при температуре 15-25 °С. Период полураспада в почве – $ДТ_{50}$ = 4 – 12 недель.

Краткая токсикологическая характеристика: лямбда-Цигалотрин относится к опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ (крысы) - 56-79 мг/кг), ингаляционной [$ЛК_{50}$ (4 час) для крыс > 0,06 мг/л воздуха] и к малоопасным веществам по накожной ($ЛД_{50}$ для крыс – 1293-1507 мг/кг, для кроликов > 2000 мг/кг) токсичности. Побочные отрицательные эффекты не обнаружены.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД для человека – 0,002 мг/кг/сут;

МДУ (мг/кг) в яблочном и виноградном соках не установлен.

Лямбда-Цигалотрин – инсектицид контактного и кишечного действия из группы синтетических пиретроидов, обладающий слабым репеллентным эффектом.

Применяется для подавлении развития вредителей из отрядов жесткокрылых, перепончатокрылых, прямокрылых, двукрылых и чешуекрылых (имаго и личинки), а также отдельных видов клещей в посевах зерновых и овощных культур, кукурузы, хлопчатника, на плантациях картофеля, технических, ягодных и плодовых культур при норме расхода 5-20 г д.в. на га в период вегетации культур до двух обработок за сезон.

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 Р = 0,95 не превышает значений, приведенных в Таблице 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры для лямбда-Цигалотрина

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, %
Сок яблок	0,01-0,1	50	4	11	13
Сок винограда	0,01-0,1	50	3	9	11

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

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для лямбда-Цигалотрина

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Сок яблок	0,01	0,01-0,1	90,5	3,5	± 1,5
Сок винограда	0,01	0,01-0,1	92,9	3,2	± 1,4

2. Метод измерения

Метод основан на определении лямбда-Цигалотрина методом капиллярной ГЖХ с использованием детектора по захвату электронов после экстракции его из матрицы органическим растворителем и перераспределения между двумя несмешивающимися растворителями.

Идентификация проводится по времени удерживания. Количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается путем подбора капиллярной колонки и условий программирования температуры.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические «OHAUS», Σ 11140.

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

Колбы мерные на 25, 50, 100 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Микрошприц на 10 $мм^3$, ТУ 2.833.106.

Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$, ГОСТ 20292-74.

Стаканы химические, стеклянные на 100 $см^3$, ГОСТ 25336-82Е.

Хроматограф газовый HP6890 Series GC System с детектором по захвату электронов (ЭЗД), регистрационный номер в государственном реестре средств измерения № 201/978.

Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Аналитический стандарт Лямбда-Цигалотрина с содержанием не менее 95 % д.в.

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон х.ч., ТУ 6-09-3513-86.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Гелий, очищенный марки "А", ТУ 51-940-80.

Натрий сернокислый, безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76.

Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Стандартный раствор лямбда-Цигалотрина в гексане – 1 $мг/см^3$ (хранить в холодильнике, срок годности 120 суток).

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой классификации.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1».

Банки с крышками для экстракции на 250 $см^3$, полипропилен, кат. № 3120-0250, NALGENE.

Виалы с тефлоновыми прокладками, Aldrich, cat. № Z27, 702-9.

Воронки химические для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

Воронки делительные на 250 $см^3$, ГОСТ 10054-75.

Испаритель ротационный Rotavapor R110 Buchi с водяной баней B-480, фирма Буши.

Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 $см^3$, КПШ-100, КПШ-250, ГОСТ 10394-72.

Концентраторы грушевидные (конические) 250 $см^3$, ГОСТ 10394-72.

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая Rtx®-1, (100 % диметилполисилоксана), длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирмы Restek.

Насос диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport.

Фильтры бумажные "Красная лента", ТУ 6-09-1678-86.

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 газовом 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 $(20\pm5)^0$с и относительной влажности не более 80%.

- выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

7.1. Приготовление рабочих растворов

7.1.1. Приготовление стандартных растворов.

100 мг лямбда-Цигалотрина (аналитического стандарта) вносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют навеску в н-гексане и доводят объем до метки гексаном (стандартный раствор № 1, концентрация 1 мг/ $см^3$). Раствор хранится в холодильнике около 120 суток.

Методом последовательного разбавления исходного раствора № 1 гексаном готовят стандартный раствор № 2 с концентрацией 10,0 мкг/$см^3$, который может храниться в холодильнике не более 30 суток.

Методом последовательного разбавления исходного раствора № 2 гексаном готовят рабочие растворы лямбда-Цигалотрина с концентрацией 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 мкг/$см^3$ для построения калибровочного графика, которые могут храниться в холодильнике не более 10 суток.

Методом последовательного разбавления исходного раствора № 1 ацетоном готовят рабочий раствор лямбда-Цигалотрина с концентрацией 0,1 мкг/$см^3$ для внесения в сок при отработке и апробации методики, который можно храниться в холодильнике не более 10 суток.

7.2. Построение градуировочного графика

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации лямбда-Цигалотрина в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки с концентрацией 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 мкг/$см^3$.

В испаритель хроматографа вводят по 1 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

По полученным данным строят градуировочный график зависимости площади хроматографического пика в Hz от концентрации лямбда-Цигалотрина в растворе в мкг/$см^3$. (рисунок 1).

8. Отбор проб и хранение

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 в соответствии с ГОСТ 25892-83 «Виноградный сок, ТУ», ГОСТ 659-79 «Соки плодовые и ягодные натуральные. ТУ».

Пробы сока хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре +4^{0}С не более 10 суток.

9. Проведение определения

9.1. Сок яблок и винограда

9.1.1. Экстракция

Навеску 10 г сока разводят 20 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия и помещают в полипропиленовую банку. К навеске прибавляют 50 см^3 ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания проб на 10 минут. Затем пробу переносят в делительную воронку и после разделения слоев нижний водный слой собирают в полипропиленовую банку, а верхний ацетонитрильный в концентратор емкостью 250 см^3. Повторяют экстракцию еще два раза, используя по 30 см^3 ацетонитрила.

Объединенный ацетонитрильный экстракт выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 30^{0}С досуха.

9.1 2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К сухому остатку в концентратор добавляют 5 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, туда же приливают 50 см^3 дистиллированной воды, перемешивают и переносят водную фазу в делительную воронку на 250 см^3. В концентратор добавляют еще раз 50 см^3 дистиллированной воды, тщательно обмывают стенки и переносят водную фазу в ту же делительную воронку. Добавляют 5 г хлорида натрия и встряхивают воронку до полного растворения осадка.

Добавляют к водной фазе 30 см^3 гексана и интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоёв нижний водный слой собирают в тот же концентратор, а верхний (гексановый) собирают в чистый концентратор, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водную фракцию возвращают в делительную воронку и экстрагируют лямбда-Цигалотрин еще дважды, используя для этого каждый раз 30 см^3 гексана. Объединённый гексановый экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 25-30°С

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

9.2. Условия хроматографирования

Хроматограф газовый HP6890 Series GC System с детектором по захвату электронов (ЭЗД), в модификации с электронным управлением пневмонической системы (ЭУПС).

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая Rtx®-1, (100 % диметилполисилоксана), длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура детектора - 300°С, поток обдува анода (азот) – 6,0 $см^3$/мин, поток поддува - 59,0 $см^3$/мин.

Температура испарителя - 260°С, режим Split, тип газа гелий, давление 20,32 psi, деление потока 5:1, split поток 5,0 $см^3$/мин.

Программированный нагрев колонки с 220°С (выдержка 1 мин) по 10 град/мин до 260°С (выдержка 7 мин), режим постоянное давление, поток колонки 1,0 мл/мин, средняя скорость 31 см/сек.

Абсолютное время удерживания лямбда-Цигалотрина – 9,03 мин $\pm$ 2%.

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 лямбда-Цигалотрина 0,1 мкг/$см^3$, соответственно разбавляют.

Количественное определение лямбда-Цигалотрина проводят по методу абсолютной калибровки посредством сравнения с хроматограммами стандартных растворов лямбда-Цигалотрина с концентрацией 0,01 – 0,1 мкг/$см^3$.

10. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа HP GC ChemStation Rev. A.06.03RUS.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание лямбда-Цигалотрина рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{Sпр \cdot A\ V}{100 \cdot Sст \cdot m} \times P$$

где X - содержание лямбда-Цигалотрина в пробе, мг/кг;

Sст - высота (площадь) пика стандарта, Hz;

Sпр - 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 лямбда-Цигалотрина 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):

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

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

r- значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\ \sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta * \bar{X}/100,$$

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

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

«содержание вещества в пробе менее 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:

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

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:

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$,

где Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * \bar{X}/100$,

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д,$$

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 К рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, *не должно превышать предела воспроизводимости* (R)

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

gost.e-ecolog.ru

ты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг;

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