

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
трифлуксистербина в цитрусовых
(мякоть, сок), плодовых косточковых,
ягодах (клубника), оливках, бананах,
плодах томатов и томатном соке, моркови,
перце, баклажанах, кабачках, огурцах,
салате, бахчевых культурах (дыня, арбуз,
тыква), капусте (брокколи, брюссельская,
белокочанная), луке-порее методом
капиллярной газожидкостной
хроматографии**

Методические указания
МУК 4.1.3084—13

Издание официальное

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
трифлорхлоргидроксибензоата в цитрусовых (мякоть, сок),
плодовых косточковых, ягодах (клубника),
оливках, бананах, плодах томатов и томатном
соке, моркови, перце, баклажанах, кабачках,
огурцах, салате, бахчевых культурах (дыня,
арбуз, тыква), капусте (брокколи,
брюссельская, белокочанная),
луке-порее методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.3084—13**

ББК 51.23
О60

О60 **Определение остаточных количеств трифлюксистробина в цитрусовых (мякоть, сок), плодовых косточковых, ягодах (клубника), оливках, бананах, плодах томатов и томатном соке, моркови, перце, баклажанах, кабачках, огурцах, салате, бахчевых культурах (дыня, арбуз, тыква), капусте (брокколи, брюссельская, белокочанная), луке-порее методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.**—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1216—5

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

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию 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 29 июля 2013 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1216—5

© 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

29 июля 2013 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств трифлуксистробина
в цитрусовых (мякоть, сок), плодовых косточковых,
ягодах (клубника), оливках, бананах, плодах томатов и
томатном соке, моркови, перце, баклажанах, кабачках,
огурцах, салате, бахчевых культурах (дыня, арбуз,
тыква), капусте (брокколи, брюссельская,
белокочанная), луке-порее методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.3084—13**

Свидетельство об аттестации от 9 октября 2012 г. № 01.00282—2008/
0143.09.10.12.

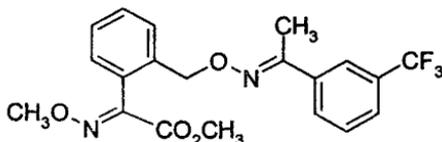
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций трифлуксистробина в цитрусовых (мякоть, сок), плодовых косточковых, ягодах (клубника), оливках, бананах, плодах томатов и томатном соке, моркови, перце, баклажанах, кабачках, огурцах, салате, бахчевых культурах (дыня, арбуз, тыква), капусте (брокколи, брюссельская, белокочанная), луке-порее в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: трифлуксистробин.

Название действующего вещества по ИЮПАК: метил (Е)-метокси-мино-{(Е)-α-[1-(α, α, α-трифтор-*m*-толил)этилидинаминоокси]-*o*-толил} ацетат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$.

Молекулярная масса: 408,4.

Трифлуксистробин представляет собой кристаллическое вещество без запаха белого цвета. Температура плавления 72,9 °С. Давление паров при 25 °С: $3,4 \times 10^{-3}$ мПа (25 °С). Растворимость в органических растворителях (г/дм³, 25 °С): метанол – 76; н-гексан – 11; толуол – 599; ацетон, этилацетат > 500. Растворимость в воде при 20 °С 610 мг/дм³. Стабилен к гидролизу и фотолузу.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD₅₀) для крыс > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD₅₀) для крыс > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC₅₀) для крыс > 4 646 мг/дм³ (4 ч).

Область применения препарата

Трифлуксистробин – высокоэффективный фунгицид на основе стробилурина с мезосистемной активностью для борьбы с паршой и мучнистой росой.

1. Погрешность измерений

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), %, $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ , %	Предел повторяемости, r , %	Предел воспроизводимости, R , %
1	2	3	4	5	6
Мякоть citrusовых	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,4	12	18

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
Сок цитрусовых	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,1	9	13
Сливы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	10	14
Клубника	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,1	9	13
Оливки	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,9	8	11
Бананы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	10	14
Томаты	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,8	8	11
Томатный сок	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,2	6	9
Морковь	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,7	8	11
Перец	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,7	8	11
Баклажаны	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	5,7	16	22
Огурцы	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,0	9	12
Салат	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,2	9	12
Тыква	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	11	15
Капуста брокколи	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,1	12	17
Капуста брюссельская	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,2	12	17
Капуста белокочанная	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,3	12	17
Лук-порей	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,9	11	15

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, \pm , %
Цитрусовые (мякоть)	0,01	0,01—0,1	87,77	5,0	2,7
Цитрусовые (сок)	0,01	0,01—0,1	95,09	3,0	1,6
Плодовые косточковые	0,01	0,01—0,1	94,20	3,9	2,1
Ягоды (клубника)	0,01	0,01—0,1	93,21	3,8	2,0
Оливки	0,01	0,01—0,1	88,05	3,8	2,0
Бананы	0,01	0,01—0,1	94,99	3,8	2,0
Томаты	0,01	0,01—0,1	92,66	4,0	2,1
Томатный сок	0,01	0,01—0,1	92,89	2,3	1,2
Морковь	0,01	0,01—0,1	91,68	4,1	2,2
Перец	0,01	0,01—0,1	91,87	3,9	2,1
Баклажаны	0,01	0,01—0,1	93,45	7,1	3,8
Огурцы	0,01	0,01—0,1	92,09	5,5	2,9
Салат	0,01	0,01—0,1	89,86	5,9	3,1
Бахчевые культуры (тыква)	0,01	0,01—0,1	83,87	3,4	1,8
Брокколи капуста	0,01	0,01—0,1	92,07	5,1	2,7
Брюссельская капуста	0,01	0,01—0,1	93,29	6,2	3,3
Белокочанная капуста	0,01	0,01—0,1	91,62	6,5	3,4
Лук-порей	0,01	0,01—0,1	89,20	4,7	2,5

2. Метод измерений

Метод основан на экстракции трифлуксиробина из исследуемой пробы растворителем, очистке экстрактов от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, далее на колонке с силикагелем с последующим измерением содержания трифлуксиробина методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электрозахватным детектором (ЭЗД) при про-

граммировании температуры и обработкой хроматограмм методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф, снабженный электрозахватным детектором с пределом детектирования по линдану $5,0 \times 10^{-14}$ г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	
Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст. и пределом допустимой погрешности $(1 \pm 2,5)$ мм рт. ст.	ТУ 2504-1799—75
Весы аналитические с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности 0,001	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 200 г и пределом допустимой погрешности $\pm 0,01$ г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Микропипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 0,1 см ³	
Микрошприц вместимостью 10 мм ³	
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 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 измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Трифлуксистеробин, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,6 %	
Азот газообразный (чистота 99,999 %) в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—05

МУК 4.1.3084—13

n-Гексан (гексан) для хроматографии	ТУ 6-09-06-657—84
Калий марганцово-кислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид), насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Кислота соляная (хлороводородная), хч	ГОСТ 3118—77
Натрий серно-кислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч, 5 %-й водный раствор	ГОСТ 4233—77
Силикагель, для колоночной хроматографии (0,200—0,500 мм, 40 А)	
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания	ТУ 64-1-2851—78
Баня водяная	
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Бумажные фильтры средней и высокой плотности	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронка делительная вместимостью 250 см ³	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Груша резиновая	ТУ 9398-05-0576-9082—03
Гомогенизатор бытовой	
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы конические (плоскодонные) вместимостью 250 см ³	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10 и 100 см ³	ГОСТ 9737—93

Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающий вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком вместимостью 100, 250 см ³	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая кварцевая капиллярная колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, содержащая сорбент: 14 % цианопропилфенилполисилоксана и 86 % диметилполисилоксана (толщина пленки сорбента 0,5 мкм)	

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

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91, иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны» и 2.2.5.2308—07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см²), 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 оператора

К выполнению измерений допускают специалиста, прошедшего обучение, освоившего методику, владеющего техникой, имеющего опыт работы на газовом хроматографе, и подтвердившего соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;
- выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, раствора внесения, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции и очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения трифлюксистробина на ней.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

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

7.1.2. n-Гексан

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

7.1.3. Этилацетат

7.1.3.1. *Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %.* Навеску ($25 \pm 0,1$) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3 , растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

7.1.3.2. *Очистка растворителя.* Этилацетат промывают последовательно 5 %-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1. *Исходный раствор трифлуксиробина для градуировки (концентрация 200 мкг/см^3).* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают $0,02 \text{ г}$ трифлуксиробина, растворяют в $50\text{—}70 \text{ см}^3$ этилацетата, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.2. *Раствор № 1 трифлуксиробина для градуировки (концентрация $2,0 \text{ мкг/см}^3$).* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают $1,0 \text{ см}^3$ исходного раствора трифлуксиробина для градуировки с концентрацией 200 мкг/см^3 (п. 7.2.1), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.2.3. *Рабочие растворы № 2—5 трифлуксиробина для градуировки (концентрация $0,02\text{—}0,2 \text{ мкг/см}^3$).*

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по $1,0; 2,0; 5,0$ и $10,0 \text{ см}^3$ раствора № 1 трифлуксиробина с концентрацией $2,0 \text{ мкг/см}^3$ (п. 7.2.2), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией трифлуксиробина на $0,02; 0,04; 0,1$ и $0,2 \text{ мкг/см}^3$ соответственно.

Растворы № 2—5 готовят непосредственно перед использованием.

7.3. Установление градуировочной характеристики

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

В инжектор хроматографа вводят 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

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

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

7.4.1. *Смесь ацетон—вода (объемное соотношение 8 : 2).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 80 см³ ацетона и 20 см³ деионизованной воды, перемешивают.

7.4.2. *Приготовление 0,002 М раствора соляной кислоты.* В мерную колбу вместимостью 1 000 см³ помещают 72 мг концентрированной соляной кислоты, доводят деионизованной водой до метки, перемешивают.

7.4.3. *Смесь гексан—этилацетат (объемное соотношение 9 : 1).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 90 см³ гексана и 10 см³ этилацетата, перемешивают.

7.4.4. *Смесь гексан—этилацетат (объемное соотношение 95 : 5).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 95 см³ гексана и 5 см³ этилацетата, перемешивают.

7.4.5. *Смесь гексан—этилацетат (объемное соотношение 8 : 2).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 80 см³ гексана и 20 см³ этилацетата, перемешивают.

7.5. Подготовка растворов внесения

7.5.1. *Исходный раствор трифлуксистробина для внесения (концентрация 100 мкг/см³).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,01 г трифлуксистробина, растворяют в 50—70 см³ этилацетата, доводят им до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.5.2. *Раствор № 1 трифлуксистробина для внесения (концентрация 1 мкг/см³).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 1,0 см³ исходного раствора трифлуксистробина для внесения с концентрацией 100 мкг/см³ (п. 7.5.1), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.6. Подготовка колонки с силикагелем

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля в 20 см³ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают 50 см³ смеси гексан—этилацетат в

объемном соотношении 9 : 1, затем 30 см³ смеси гексан—этилацетат в объемном соотношении 95 : 5, скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

7.7. Проверка хроматографического поведения трифлуксистробина на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,4 см³ раствора № 1 трифлуксистробина для внесения с концентрацией 1,0 мкг/см³ (п. 7.5.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см³ смеси гексан—этилацетат (в объемном соотношении 95 : 5), выдерживают на УЗ-бане в течение 60 с, далее наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды этой же смесью растворителей порциями по 5 см³, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку — 1—2 капли в секунду.

Затем колонку промывают 50 см³ смеси гексан—этилацетат (95 : 5, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, 30 см³ смеси гексан—этилацетат (90 : 10, по объему), 40 см³ смеси гексан—этилацетат (80 : 20, по объему). Фракционно (по 10 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 см³ этилацетата, анализируют содержание трифлуксистробина по п. 9.4.

Фракции, содержащие трифлуксистробин, объединяют и вновь анализируют.

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

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

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными: ГОСТ 4427—82 «Апельсины. Технические условия»; ГОСТ 4428—82 «Мандарины. Технические условия»; ГОСТ 4492—82 «Лимоны. Технические условия»; ГОСТ 1725—85 «Томаты свежие. Технические условия»; ГОСТ Р 51810—01 «Томаты свежие, реализуемые в розничной торговой сети. Технические условия»; ГОСТ 1726—85 «Огурцы свежие. Технические условия»; ГОСТ 13908—68 «Перец сладкий свежий. Технические условия»; ГОСТ 28472—90 «Виноград свежий ручной уборки для консервирования. Требования при заготовках и поставках»; ГОСТ 25896—83 «Виноград свежий столовый. Технические условия»;

ГОСТ 1724—85 «Капуста белокочанная свежая, заготавливаемая и поставляемая. Технические условия»; ГОСТ Р 51809—01 «Капуста белокочанная свежая, реализуемая в розничной торговой сети. Технические условия»; ГОСТ 7968—89 «Капуста цветная свежая. Требования при заготовках, поставках и реализации»; ГОСТ 13907—86 «Баклажаны свежие. Технические условия»; ГОСТ Р 53071—08 «Баклажаны свежие, реализуемые в розничной торговле. Технические условия»; ГОСТ 7975—68 «Тыква продовольственная свежая. Технические условия»; ГОСТ Р 53088—08 «Лук-порей свежий, реализуемый в розничной торговле. Технические условия»; ГОСТ 26313—84 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб» 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 хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике в темноте не более 7 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре -18°C .

Пробы сока анализируют в день изготовления.

Перед анализом образцы измельчают с помощью гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

Измельченные образцы исследуемых продуктов массой 20 г вносят в коническую колбу на $250\text{--}300\text{ см}^3$, добавляют 100 см^3 смеси ацетон-вода (объемное соотношение 8 : 2), интенсивно встряхивают вручную в течение 3 мин и помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин, затем в течение 3 мин выдерживают на ультразвуковой бане.

Пробам дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. В коническую колбу с пробой вносят новые порции экстрагента объемом 70 см^3 и повторно экстрагируют на аппарате для встряхивания в течение 20 мин, затем на ультразвуковой бане в течение 5 мин, после чего раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Фильтр промывают смесью ацетон-вода (объемное соотношение 8 : 2) порцией 30 см^3 .

Экстракт и промывную жидкость помещают в мерный цилиндр на 250 см^3 , отбирают $1/5$ экстракта (эквивалентную 4 г образца), переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 см^3 . Раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не

выше 40 °С до водного остатка (около 12—16 см³). Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водный остаток, полученный по п. 9.1, переносят в делительную воронку вместимостью 250 см³. Вносят в воронку 10 см³ насыщенного водного раствора хлористого натрия, 20 см³ 0,002 М раствора соляной кислоты и 30 см³ трет-бутилметилового эфира. Содержимое воронки интенсивно встряхивают в течение 2—3 мин. После полного разделения слоев, верхний органический слой (ацетон-трет-бутилметиловый эфир) фильтруют через слой безводного сульфата натрия в колбу для упаривания вместимостью 100 см³. Водную фракцию возвращают и дважды повторяют экстракцию новыми порциями по 20 см³ трет-бутилового эфира.

Объединенный органический экстракт, пропущенный через безводный сульфат натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С. Сухой остаток подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток, полученный по п. 9.2, находящийся в колбе для упаривания, растворяют в 5 см³ смеси гексан—этилацетат (в объемном соотношении 95 : 5), выдерживают на УЗ-бане 60 с и наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 7.6. Колбу ополаскивают дважды порциями смеси гексан—этилацетат в объемном соотношении 95 : 5 по 2,5 см³, которую также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку — 1—2 капли в секунду. Промывают пробу 50 см³ смеси гексан—этилацетат в объемном соотношении 95 : 5 и 30 см³ смеси гексан—этилацетат в объемном соотношении 90 : 10, элюаты отбрасывают.

Трифлюксистробин элюируют с колонки 40 см³ смеси гексан—этилацетат в объемном соотношении 8 : 2 со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 см³, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см³ смеси этилацетата, помещают в ультразвуковую баню на 40—60 с и анализируют содержание трифлюксистробина методом ГЖХ по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф, снабженный электрозахватным детектором.

Хроматографическая кварцевая капиллярная колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, содержащая сорбент: 14 % цианопротилфенилполисилоксана и 86 % диметилполисилоксана (толщина пленки сорбента 0,5 мкм).

Температура: детектора 300 °С;
испарителя 260 °С.

Температура термостата колонки программируемая. Начальная температура – 150 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 250 °С, выдержка 4 мин, нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 270 °С.

Газ 1 (азот): давление 70 кПа, 30,10 см/с, поток 1,501 см³/мин.

Газ 2 (азот): деление потока 1 : 4; сброс 6,9 см³/мин.

Хроматографируемый объем: 1 мм³.

Линейный диапазон детектирования: 0,02—0,2 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 0,2 мкг/см³, разбавляют этилацетатом (не более, чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

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

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

C – концентрация трифлуксиробина, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m – масса анализируемого образца, г.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2,8\sigma$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

\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 трифлуксистробина в пробах цитрусовых (мякоть, сок), плодовых косточковых, ягод (клубника), оливок, бананов, плодов томатов и томатном соке, моркови, перца, баклажанов, кабачков, огурцов, салата, бахчевых культур (дыня, арбуз, тыква), капусты (брокколи, брюссельская, белокочанная), лука-порей менее – 0,01 мг/кг.*

* – 0,01 мг/кг – предел обнаружения трифлуксистробина в пробах цитрусовых (мякоть, сок), плодовых косточковых, ягод (клубника), оливок, бананов, плодов томатов и томатном соке, моркови, перца, баклажанов, кабачков, огурцов, салата, бахчевых культур (дыня, арбуз, тыква), капусты (брокколи, брюссельская, белокочанная), лука-порей соответственно.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание трифлуксистробина в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,02 до 0,2 мкг/см³.

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

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

X – концентрация трифлуксистробина в пробе при контрольном измерении, мкг/см³;

C – известная концентрация градуировочного раствора трифлуксистробина, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см³;

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

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины неустойчивости градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов трифлуксистробина, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении неустойчивости 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_0 должна удовлетворять условию:

$$C_0 \geq \Delta_{n,\bar{x}} + \Delta_{n,\bar{x}'}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{n,\bar{x}}$ ($\pm \Delta_{n,\bar{x}'}$) – 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:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Контрольный параметр процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C_d, \text{ где}$$

\bar{X}' , \bar{X} , C_d – 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:

$$K = \sqrt{\Delta_{a,\bar{X}'}^2 + \Delta_{a,\bar{X}}^2}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры (K_k) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_k| \leq K, \quad (2)$$

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):

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

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

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

**Определение остаточных количеств трифлуксистробина
в цитрусовых (мякоть, сок), плодовых косточковых, ягодах
(клубника), оливках, бананах, плодах томатов и томатном соке,
моркови, перце, баклажанах, кабачках, огурцах, салате, бахчевых
культурах (дыня, арбуз, тыква), капусте (брокколи, брюссельская,
белокочанная), луке-порее методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.3084—13**

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

Подписано в печать 03.10.13

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 1,25
Заказ 54

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