

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Определение остаточных количеств  
феноксикарба в яблоках, сливах и  
винограде методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.2272—07**

Издание официальное

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

**4.1. Методы контроля. Химические факторы**

**Определение остаточных количеств  
феноксикарба в яблоках, сливах и винограде  
методом высокоэффективной жидкостной  
хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.2272-07**

**УТВЕРЖДАЮ**

Руководитель Федеральной службы  
по надзору в сфере защиты прав  
потребителей и благополучия человека,  
Главный Государственный санитарный  
врач Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

24 сентября 2007 г.

Дата введения: 10 декабря 2007 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы

**Определение остаточных количеств феноксикарба  
в яблоках, сливах и винограде методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

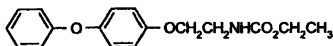
**Методические указания  
МУК 4.1.2272-07**

---

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации феноксикарба в яблоках и сливах в диапазоне 0,01-0,1 мг/кг, в ягодах в соке винограда в диапазоне 0,05-0,5 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Феноксикарб

Название вещества по ИЮПАК: Этил [2-(4-феноксифе-нокси)этил]карбамат



$C_{17}H_{19}NO_4$

Мол. масса: 301,3

Белый кристаллический порошок. Температура плавления: 53-54°C. Давление паров при 25°C:  $8,67 \times 10^{-4}$  мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода:  $K_{ow} \log P = -4,07$ . Растворимость (г/л) при 25°C: ацетон - 770, этанол - 510, толуол - 630, гексан - 5,3, н-октанол - 130, вода - 0,008.

Вещество стабильно на свету и не гидролизуется в водных растворах при pH 3-9.

*Краткая токсикологическая характеристика*

Острая пероральная токсичность (LD<sub>50</sub>) для крыс – более 10000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD<sub>50</sub>) для крыс - более 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC<sub>50</sub>) для крыс - более 4400 мг/м<sup>3</sup> воздуха. Феноксикарб не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика. LC<sub>50</sub> для рыб - 1,6 - 10,3 мг/л (96 час.).

Инсектицид нетоксичен для птиц, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов и пчел.

Гигиенические нормативы для феноксикарба в России:

ДСД – 0,05 мг/кг/сутки;

МДУ в яблоках и сливах – 0,01 мг/кг, в винограде – 0,1 мг/кг.

*Область применения*

Феноксикарб – регулятор роста насекомых ювеноидного типа с контактно-кишечным действием. Применяется против вредителей из отряда чешуекрылых на хлопчатнике, виноградниках, фруктовых деревьях и декоративных культурах.

Применяется в России в качестве инсектицида для борьбы с яблонной и сливовой плодовой жуккой, гроздевой листоверткой на плодовых семечковых и косточковых культурах и виноградниках путем однократного опрыскивания в течение вегетационного сезона с нормой расхода 0,1 – 0,15 кг д.в./га.

## 1. Метрологические характеристики 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 таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

**Метрологические параметры**

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, %	Стандартное отклонение повторяемости σ, %	Предел повторяемости τ, %	Предел воспроизводимости R, %

Ягоды винограда	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	2,8	7,9	12,4
	более 0,1 до 0,5	25	2,7	7,6	11,8
Сок винограда	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,5	9,8	15,2
	более 0,1 до 0,5	25	2,7	7,6	11,8
Яблоки	0,01	100	3,2	9,0	14,0
	более 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,8	7,9	12,4
Сливы	0,01	100	2,9	8,2	12,8
	Более 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,7	7,6	11,8

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для полного диапазона концентраций ( $n=20$ ) приведены в таблице 2.

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для  $n=20$ ,  $P = 0,95$

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, $\pm\%$
Ягоды винограда	0,05	0,05-0,5	83,4	3,0	$\pm 2,8$
Сок винограда	0,05	0,05-0,5	84,5	3,2	$\pm 3,0$
Яблоки	0,01	0,01-0,1	84,7	3,4	$\pm 3,1$
Сливы	0,01	0,01-0,1	84,0	3,2	$\pm 3,0$

## 2. Метод измерений

Методика основана на определении феноксикарба с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Контроль феноксикарба в образцах яблок, сливы, ягод и сока винограда осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из сока гексаном, из яблок, слив и ягод метанолом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

## 3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

### 3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирма Кнауер, Германия)	Номер Госреестра №16848-03
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 2104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 см <sup>3</sup>	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с шлифованной пробкой вместимостью 5 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

### 3.2. Реактивы

Феноксикарб, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,5% (Сингента, Швейцария)	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6702
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Кислота орто-фосфорная, хч, 85%	ГОСТ 6552
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Натрий двууглекислый, хч	ГОСТ 83-79
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией

### 3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 см <sup>3</sup>	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена вместимостью 250 см <sup>3</sup>	ГОСТ 5614
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 см <sup>3</sup>	ГОСТ 9737
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см <sup>3</sup>	ГОСТ 9737
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм	

МУК 4.1.2272-07

Колонка хроматографическая, стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм)  
(ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва) ТУ 4215-001-05451931-94  
Насос водоструйный вакуумный ГОСТ 10696  
Патроны концентрирующие Диапак С8 (0,6 г), ТУ 4215-002-05451931-94  
(ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва)  
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ТУ 25-11-917-74  
ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)  
Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии  
(Мерк, Германия) I степени активности  
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 см<sup>3</sup> ГОСТ 25336  
Стекловата  
Установка для перегонки растворителей  
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные ТУ 6-09-2678-77  
или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ  
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа  
вместимостью 100 мм<sup>3</sup>, модель Microliter # 1710 (Hamilton, США)  
Шприц медицинский с разъемом Льюэра вместимостью 20 см<sup>3</sup> ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

#### 4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими веществами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной 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 кон-



центрации (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 жидкостном 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  $(20\pm 5)^{\circ}\text{C}$  и относительной влажности не более 80%.

\* выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

## **7. Подготовка к выполнению измерений**

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

### **7.1. Очистка органических растворителей**

#### *7.1.1. Очистка ацетонитрила*

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют. Непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

#### *7.1.2. Очистка n-гексана*

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания ее в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

### *7.1.3. Очистка этилацетата*

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

### *7.1.4. Очистка силикагеля*

Силикагель 60 (0,063-0,20 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130<sup>0</sup>С в течение 5 часов.

## **7.2. Приготовление 0,005 М и 0,01 М растворов орто-фосфорной кислоты**

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают соответственно 0,34 см<sup>3</sup> или 0,68 см<sup>3</sup> 85%-ной орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

### **7.3. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8 для очистки экстракта**

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 20 см<sup>3</sup> гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают 20 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (1:9, по объему) и 30 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 7 см<sup>3</sup> ацетонитрила и 7 см<sup>3</sup> смеси ацетонитрил-вода (4:6, по объему) со скоростью 5 см<sup>3</sup>/мин.

### **7.4. Проверка хроматографического поведения феноксикарба на колонке с силикагелем**

В круглодонную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 0,1 см<sup>3</sup> градуировочного раствора № 1 феноксикарба с концентрацией

10 мг/см<sup>3</sup> в ацетонитриле (п. 7.7.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.3. Промывают колонку 30 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 50 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (7:3, по объему). Фракционно (по 10 см<sup>3</sup>) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см<sup>3</sup> ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 2 см<sup>3</sup> подвижной фазы, подготовленной по п. 7.5., перемешивают и анализируют на содержание феноксикарба по п. 9.5.

#### ***7.5. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ***

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают 650 см<sup>3</sup> ацетонитрила, 350 см<sup>3</sup> 0,005 М водного раствора орто-фосфорной кислоты (п.7.2.), перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр. Эта подвижная фаза 1 используется при исследовании образцов винограда и сливы.

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают 500 см<sup>3</sup> ацетонитрила, 500 см<sup>3</sup> 0,01 М водного раствора орто-фосфорной кислоты (п.7.2.), перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр. Эта подвижная фаза 2 используется при исследовании образцов яблок.

#### ***7.6. Кондиционирование хроматографической колонки***

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.5.) при скорости подачи растворителя 1 см<sup>3</sup>/мин не менее часа до установления стабильной базовой линии.

#### ***7.7. Приготовление градуировочных растворов***

***7.7.1. Исходный раствор феноксикарба для градуировки (концентрация 100 мг/см<sup>3</sup>).*** В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 0,010 г феноксикарба, растворяют в 40-50 см<sup>3</sup> ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше – 18<sup>0</sup>С в течение 3-х месяцев.

***7.7.2. Раствор феноксикарба №1 для градуировки (концентрация 10 мг/см<sup>3</sup>).***

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 10 см<sup>3</sup> исходного раствора феноксикарба с концентрацией 100 мкг/см<sup>3</sup> (п. 7.7.1.), добавляют ацетонитрил до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб яблок, слив, ягод и сока винограда с внесением при оценке полноты извлечения феноксикарба из исследуемых образцов используют ацетонитрильный раствор феноксикарба с концентрацией 1 мкг/см<sup>3</sup>.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше -18<sup>0</sup>С в течение месяца.

*7.7.3. Рабочие растворы №№ 2-5 феноксикарба для градуировки (концентрация 0,05-0,5 мкг/см<sup>3</sup>).*

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 0,5, 1,0, 2,5 и 5,0 см<sup>3</sup> градуировочного раствора № 1 феноксикарба с концентрацией 10 мкг/см<sup>3</sup> (п. 7.7.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.5., тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией феноксикарба 0,05, 0,10, 0,25 и 0,5 мкг/см<sup>3</sup>, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

### *7.8. Установление градуировочной характеристики*

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мм) от концентрации феноксикарба в растворе (мкг/см<sup>3</sup>), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм<sup>3</sup> каждого градуировочного раствора (п.7.7.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

## **8. Отбор и хранение проб**

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 25896-83 «Виноград свежий столовый», ГОСТом 16270-70 «Яблоки свежие ранних сортов созревания. ТУ», ГОСТом 21122-75 «Яблоки свежие поздних сортов созревания. ТУ», ГОСТом

27572-87 «Яблоки свежие для промышленной переработки. ТУ», ГОСТом 21920-76 «Слива и алыча крупноплодная. ТУ».

Пробы плодов и ягод хранят в стеклянной посуде в холодильнике при температуре  $4^{\circ}\text{C}$  не более 2-х дней; при длительном хранении пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ . Сок получают из ягод непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом плоды и ягоды измельчают.

## 9. Выполнение определения

### 9.1. Экстракция феноксикарба

9.1.1. *Плоды, ягоды.* Навеску (20 г) измельченного растительного материала помещают в стакан гомогенизатора вместимостью  $500\text{ см}^3$ , приливают  $100\text{ см}^3$  метанола и гомогенизируют 5 минут при 8000 об/мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью  $250\text{ см}^3$ . Осадок на фильтре промывают  $50\text{ см}^3$  метанола. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/4 его часть (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью  $100\text{ см}^3$ . Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2.

9.1.2. *Сок.* Навеску (20 г) свежесвыжатого сока помещают в химический стакан вместимостью  $100\text{ см}^3$ , приливают  $60\text{ см}^3$  деионизованной воды и перемешивают. Отбирают 1/4 объема раствора (эквивалентна 5 г образца), переносят в делительную воронку вместимостью  $100\text{ см}^3$ , приливают  $25\text{ см}^3$  насыщенного раствора хлорида натрия и  $30\text{ см}^3$  гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью  $100\text{ см}^3$ . Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по  $25\text{ см}^3$  гексана. Объединенную органическую фракцию, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре  $30^{\circ}\text{C}$ . Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3. и 9.4.

### ***9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей***

Отобранные аликвоты экстрактов плодов и ягод (из пп. 9.1.1.) упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (1-2 см<sup>3</sup>) при температуре 40<sup>0</sup>С. К водному остатку приливают 15 см<sup>3</sup> деионизованной воды, 25 см<sup>3</sup> насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см<sup>3</sup>. В воронку вносят 30 см<sup>3</sup> гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой собирают в делительную воронку вместимостью 250 см<sup>3</sup>, а нижнюю водную фазу экстрагируют еще дважды, используя по 25 см<sup>3</sup> гексана. Гексановые фракции объединяют, в воронку вносят 40 см<sup>3</sup> 0,5%-ного водного раствора двууглекислого натрия и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний водный слой отбрасывают, а гексановую фракцию повторно обрабатывают 30 см<sup>3</sup> 0,5%-ного водного раствора двууглекислого натрия при встряхивании. После разделения фаз гексановую фракцию фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и затем упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30<sup>0</sup>С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3 и 9.4.

### ***9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем***

Сухие остатки в круглодонной колбе, полученные по пп. 9.1.2. и 9.2., растворяют в 2,4 см<sup>3</sup> гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 0,6 см<sup>3</sup> этилацетата, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.3. Колбу обмывают 5 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 15 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Феноксикарб элюируют с колонки 45 см<sup>3</sup> смеси гексан-этилацетат (7:3, по объему), отбрасывая первые 10 см<sup>3</sup> элюата и собирая последующие 35 см<sup>3</sup> элюата непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30<sup>0</sup>С.

#### **9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак С8**

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.3., растворяют в 1,2 см<sup>3</sup> ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 1,8 см<sup>3</sup> деионизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на концентрирующий патрон Диапак С8, подготовленный по п.7.3., элюат отбрасывают. Колонку промывают 2 см<sup>3</sup> смеси ацетонитрил-вода (1:1, по объему), элюат отбрасывают. Феноксикарб элюируют с патрона 5 см<sup>3</sup> смеси ацетонитрил-вода (6:4, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха при температуре не выше 40<sup>0</sup>С. Остаток в колбе растворяют в 1 см<sup>3</sup> (для яблок и слив) или 5 см<sup>3</sup> (для винограда) соответствующей подвижной фазы, подготовленной по п.7.3., помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание феноксикарба по пп. 9.5.1. или 9.5.2.

#### **9.5. Условия хроматографирования**

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирма Клауег, Германия)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая в качестве неподвижной фазы Диасфер 110-С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Рабочая длина волны: 230 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 мм<sup>3</sup>

Линейный диапазон детектирования 1 - 10 нг

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/см<sup>3</sup>, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

##### **9.5.1. Исследование образцов винограда и сливы**

Подвижная фаза 1: ацетонитрил-0,005 М Н<sub>3</sub>РО<sub>4</sub> (65:35, по объему)

Скорость потока элюента: 0,8 см<sup>3</sup>/мин

Время удерживания феноксикарба: около 6 минут.

##### **9.5.2. Исследование образцов яблок**

Подвижная фаза 2: ацетонитрил-0,01 М Н<sub>3</sub>РО<sub>4</sub> (50:50, по объему)

Скорость потока элюента: 0,9 см<sup>3</sup>/мин

Время удерживания феноксикарба: около 14 минут.

### 10. Обработка результатов анализа

Содержание феноксикарба рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}, \text{ где}$$

X - содержание феноксикарба в пробе, мг/кг;  
 H<sub>1</sub> - высота пика образца, мм;  
 H<sub>0</sub> - высота пика стандарта, мм;  
 A - концентрация стандартного раствора феноксикарба, мкг/см<sup>3</sup>;  
 V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см<sup>3</sup>;  
 m - масса анализируемой части образца, г (для всех объектов – 5 г).

### 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

где X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> - результаты параллельных определений, мг/кг;

r - значение предела повторяемости (таблица 1), при этом r = 2.8σ<sub>r</sub>.

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

### 12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta \cdot X / 100,$$

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 нижней границы определения»*

*менее 0,01 мг/кг\* для яблок и слив и менее 0,05 мг/кг \*\* для ягод и сока винограда*

*\* 0,01 мг/кг - предел обнаружения для яблок и слив.*

*\*\* 0,05 мг/кг - предел обнаружения для ягод и сока винограда.*

### 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 с применением метода добавок.

Величина добавки  $C_0$  должна удовлетворять условию:

$$C_0 = \Delta_{x, \bar{x}} + \Delta_{x, \bar{x}'},$$

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

$$\Delta_n = \pm 0,84 \Delta,$$

где  $\Delta$  - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta * X / 100,$$

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

Результат контроля процедуры  $K_x$  рассчитывают по формуле:

$$K_x = \bar{X}' - \bar{X} - C_0,$$

где  $\bar{X}'$ ,  $\bar{X}$ ,  $C_0$  - среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.11) содержания компо-

нента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля  $K$  рассчитывают по формуле

$$K = \sqrt{\Delta^2_{\dots\bar{X}} + \Delta^2_{\dots\bar{X}}}$$

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

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

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

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

#### 14. Разработчики

Талалакина Т.Н., науч. сотр; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук.

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20

**ББК 51.21**

**О-60**

**О-60**      **Определение остаточных количеств феноксикарба в яблоках, сливах и винограде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. — 18 с.**

1. Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии (Т.Н. Талалакина, А.М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 2 от 21.06.2007 г.).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 24 сентября 2007 г.

4. Введены в действие с 10 декабря 2007 г.

5. Введены впервые.

**ББК 51.21**

Формат 60x88/16

Печ. л. 1,25

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