Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств форамсульфурона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3563—19

Издание официальное

Москва • 2020

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 форамсульфурона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3563—19

ББК 51.23
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств форамсульфурона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020.—24 с.

ISBN 978–5–7508–1722–1

1. Разработаны ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (А. В. Довгилевич, Е. В. Довгилевич, А. С. Поликарпов, Е. Н. Тестова).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 11 октября 2019 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.23

Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 28.01.2020

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5

Тираж 100 экз. Заказ 4

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
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19А
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 633-86-59

© Роспотребнадзор, 2020

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
11 октября 2019 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств форамсульфурона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3563—19

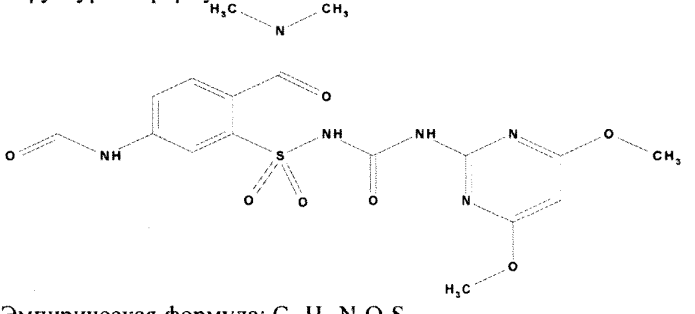
I. Общие положения и область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее – МУК) устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств форамсульфурона в ботве сахарной свеклы в диапазоне 0,05—0,50 мг/кг и в корнеплодах сахарной свеклы в диапазоне 0,01—0,10 мг/кг.

1.2. Физико-химические свойства форамсульфурона.

Название действующего вещества по ИЮПАК: 1-(4,6-диметоксипиримидин-2-ил)-3-[2-(диметилкарбамоил)-5-формамидофенил-сульфонил]мочевина.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{20}N_6O_7S$.

Молекулярная масса: 452,4.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: светло-бежевый, слабый кисловатый запах.

Давление насыщенного пара: $4,2 \times 10^{-11}$ Па при 20 °С; $1,3 \times 10^{-10}$ Па при 25 °С.

Температура плавления: 199,5 °С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода при 20 °С: $K_{ow}\log P$ = 1,44 (pH 2), 0,603 (pH 5), –0,78 (pH 7), –1,97 (pH 9), 0,60 (дистиллированная вода, pH 5,5—5,7).

Растворимость в воде (в г/дм^3 при 20 °С): 0,04 (при pH 5); 3,3 (при pH 7); 94,6 (при pH 9).

Растворимость в органических растворителях (в г/дм^3 при 20 °С): ацетон – 1,925; ацетонитрил – 1,111; 1,2-дихлорэтан – 0,185; гептан < 0,01; метанол – 1,66; этилацетат – 0,362.

В водных растворах период полураспада DT_{50} (25 °С): 3,7 дня (pH 4), 10,1 дня (pH 5), 128 дней (pH 7) и 132 дня (pH 9).

Фотолитически стабилен, в кислой среде неустойчив – при pH = 5 период полураспада равен 10 дней.

1.3. *Краткая токсикологическая характеристика*: форамсульфурон относится к малоопасным по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 часа) более 5 040 мг/м^3 воздуха).

Область применения: форамсульфурон – послевсходовый гербицид системного действия из класса сульфонилмочевин. В основном поглощается листьями, ингибирует синтез фермента ацетолактатсинтазы (ALS), участвующего в цепи биосинтеза аминокислот, и нарушает процессы синтеза белков, что вызывает прекращение деления клеток в меристемных тканях.

1.4. МУК предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также могут быть использованы организациями, аккредитованными в установленном порядке на проведение исследований продовольственного сырья, пищевых продуктов.

1.5. МУК носят рекомендательный характер.

II. Погрешность измерений

2.1. При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятно-

сти $P = 0,95$ 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 для форамсульфурона

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, %
Ботва сахарной свеклы	0,05—0,1 вкл.	50	3	8	11
	0,2—0,5 вкл.		3	9	12
Корнеплоды сахарной свеклы	0,01—0,1 вкл	50	4	10	14

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для форамсульфурона

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, ±, %
Ботва сахарной свеклы	0,05	0,05—0,50	85,9	2.5	1.0
Корнеплоды сахарной свеклы	0,01	0,01—0,10	81.6	4.2	1,6

III. Метод измерения

Метод основан на определении форамсульфурона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее – ВЭЖХ) с использованием диодно-матричного детектора после его экстракции из образцов ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на концентрирующих патронах для твердофазной экстракции с привитыми гидрофобными гексадецильными группами.

Идентификация вещества проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

IV. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

4.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228
Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 400 г и пределом допустимой погрешности ± 0,5 г	ГОСТ Р 53228
Колбы мерные объемом 10, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770
Пипетки мерные объемом 1,0; 2,0, 5,0 и 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227
pH-метр/милливольтметр с диапазоном измерения от 0 до 14 pH; ± 1999 мВ, снабженный электродной системой для измерения активности ионов водорода (pH) в растворах	
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф жидкостной с диодно-матричным детектором, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С и с возможностью использования стандартного автосамплера с дозирующим объемом от 0,1 до 100 $мм^3$ для автоматического ввода пробы в хроматографическую систему; – компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные объемом 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770

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

4.2. Реактивы

Форамсульфурон, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,3 %	
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709
n-Гексан, хч	
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490
Калий фосфорнокислый двузамещённый, 3-водный, чда	ГОСТ 2493
Кальций хлористый, ч	
Кислота ортофосфорная, 85 %, чда	ГОСТ 6552
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с привитыми гидрофобными гексадецильными группами с постоянной активностью с размером частиц 63—200 мкм (С16) (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (далее – концентрирующий патрон № 1)	
Метилен хлористый, хч	
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий углекислый, кислый, хч	ГОСТ 4201
Натрия гидроокись, хч	ГОСТ 4328

Примечание. Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556
Виалы объемом 2 $см^3$, закрываемые завинчивающейся или запрессовывающейся крышкой	

с тефлонированной резиновой прокладкой, прокалываемой микрошприцем для автоматического дозатора проб	
Воронки делительные объемом 250 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336
испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные объемом 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4000 $см^3$ ТС	
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс., с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—1000 $см^3$	ГОСТ 25336
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие, диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	
Фильтры мембранные для очистки растворителей, диаметром 47 мм, с отверстиями пор 0,45 мкм	
Шприц инъекционный многократного применения объемом 10 $см^3$	ГОСТ 22967

Примечание. Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

V. Требования безопасности

5.1. 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 жидкостный хроматограф.

5.2. Помещение лаборатории 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 гигиенических нормативов[1].

VI. Требования к квалификации операторов

6.1. Измерения в соответствии с настоящими МУК может выполнять специалист, имеющий опыт работы на жидкостном хроматографе, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

VII. Условия измерений

7.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

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

VIII. Подготовка к определению

8.1. Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с окисью алюминия для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с окисью алюминия, установление градуировочной характеристики.

Подготовка органических растворителей.

8.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не

[1] ГН 2.2.5.3532—18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны»; ГН 2.2.5.2308—07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

8.1.2. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5 % раствора натрия углекислого кислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 часов. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Хлористый метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

8.1.3. Очистка гексана

Гексан, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем гексан сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Гексан перегоняют при температуре 68,7 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 68,7 °С, отбрасывают.

8.1.4. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 часов.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

8.2. Приготовление растворов для проведения анализа

8.2.1. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил, бидистиллированную воду и ортофосфорную кислоту. Ацетонитрил и воду предварительно фильтруют через мембранные фильтры.

В колбу объемом 1 000 см^3 помещают 350 см^3 ацетонитрила, 650 см^3 0,005 М водного раствора ортофосфорной кислоты и перемешивают.

В случае отсутствия в составе хроматографической системы автоматического дегазатора через раствор подвижной фазы пропускают газообразный гелий со скоростью 20 $см^3$/мин в течение 5 минут, после чего его помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту.

8.2.2. Приготовление рабочих растворов

8.2.2.1. *Приготовление 2 М раствора ортофосфорной кислоты.*

В мерную колбу объемом 100 $см^3$ вносят 50 $см^3$ бидистиллированной воды, прибавляют 13,7 $см^3$ 85,0%-й ортофосфорной кислоты, доводят объем бидистиллированной водой до метки и перемешивают.

8.2.2.2. *Приготовление 0,005 М раствора ортофосфорной кислоты.*

В мерную колбу объемом 1 000 $см^3$ вносят 500 $см^3$ бидистиллированной воды, прибавляют 2,5 $см^3$ 2 М раствора ортофосфорной кислоты, доводят объем профильтрованной через мембранный фильтр бидистиллированной водой до метки и перемешивают. Раствор используют в качестве компонента подвижной фазы для хроматографического анализа.

8.2.2.3. *Приготовление 1 М раствора гидроокиси натрия.*

В термостойкий химический стакан на 500 $см^3$ переносят 20 г гидроокиси натрия, добавляют 200—300 $см^3$ дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают (осторожно, при растворении щелочи раствор сильно нагревается) и после охлаждения раствор переносят в мерную колбу, доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

8.2.2.4. *Приготовление 0,05 М раствора двузамещенного фосфорнокислого калия.*

Взвешивают 11,4 г $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ и переносят в мерную колбу объемом 1 000 $см^3$, добавляют 500—600 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения соли, проверяют pH полученного раствора. Если pH раствора менее 9, доводят его до указанного значения с помощью 1 М раствора гидроокиси натрия, контролируя pH. После достижения нужного значения pH объем доводят водой до метки.

8.2.2.5. *Приготовление 0,5%-го водного раствора уксусной кислоты.*

В мерную колбу объемом 100 $см^3$ помещают 50 $см^3$ бидистиллированной воды, прибавляют 0,5 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, перемешивают и доводят водой объем в колбе до метки. Раствор используется для приготовления 0,005 % водного раствора уксусной кислоты.

8.2.2.6. *Приготовление 0,005%-го водного раствора уксусной кислоты.*

В мерную колбу объемом 100 см^3 помещают 50 см^3 бидистиллированной воды, прибавляют 1 см^3 0,5 % водного раствора уксусной кислоты, перемешивают и доводят водой объем в колбе до метки.

8.2.2.7. *Приготовление 0,1%-го раствора уксусной кислоты в ацетонитриле.*

В мерную колбу объемом 100 см^3 помещают 50 см^3 ацетонитрила, прибавляют 0,1 см^3 ледяной уксусной кислоты, перемешивают и доводят ацетонитрилом объем в колбе до метки.

8.2.2.8. *Приготовление 5%-го раствора натрия углекислого кислого.*

В мерную колбу на 1 000 см^3 переносят 50 г натрия углекислого кислого, добавляют 200—300 см^3 дистиллированной воды, перемешивают содержимое до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки. Раствор используют для очистки хлористого метилена.

8.2.2.9. *Приготовление раствора для разведения проб и приготовления стандартных растворов.*

Мерным цилиндром отмеряют 35 см^3 ацетонитрила и помещают в плоскодонную колбу объемом 100 см^3. Туда же помещают 65 см^3 0,005 М водного раствора ортофосфорной кислоты. Смесь тщательно перемешивают и используют для приготовления стандартных растворов для хроматографирования и растворения проб перед хроматографированием. Раствор хранят не более 2 недель при комнатной температуре.

8.2.3. Приготовление градуировочных растворов

8.2.3.1. *Стандартный раствор № 1 с концентрацией форамсульфурона 100,0 мкг/см^3.*

Взвешивают 10 мг форамсульфурона в мерной колбе объемом 100 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранится в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение 30 суток.

8.2.3.2. *Стандартный раствор № 2 с концентрацией форамсульфурона 10,0 мкг/см^3*

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 10 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике в течение 30 суток.

8.2.3.3. *Стандартный раствор № 3 с концентрацией форамсульфурона 1,0 мкг/см^3.*

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65. Стандартный раствор № 3 используется для установления градуировочной характеристики, готовят перед использованием и применяют в течение одного рабочего дня.

8.2.3.4. *Стандартный раствор № 4 с концентрацией форамсульфурона 0,5 мкг/$см^3$.*

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65. Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной характеристики, готовят перед использованием и применяют в течение одного рабочего дня.

8.2.3.5. *Стандартный раствор № 5 с концентрацией форамсульфурона 0,2 мкг/$см^3$.*

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65. Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной характеристики, готовят перед использованием и применяют в течение одного рабочего дня.

8.2.3.6. *Стандартный раствор № 6 с концентрацией форамсульфурона 0,1 мкг/$см^3$.*

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65. Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной характеристики, готовят перед использованием и применяют в течение одного рабочего дня.

8.2.3.7. *Стандартный раствор № 7 с концентрацией форамсульфурона 0,07 мкг/$см^3$.*

Из стандартного раствора № 6 отбирают пипеткой 7 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65. Стандартный раствор № 7 используется для установления градуировочной характеристики, готовят перед использованием и применяют в течение одного рабочего дня.

8.2.3.8. *Стандартные растворы форамсульфурона с концентрацией 2,5; 2,0; 1,25; 1,0; 0,5; 0,4; 0,25 и 0,2 мкг/$см^3$ для внесения в контрольные образцы.*

Методом последовательного разведения ацетонитрилом стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 2,5; 2,0; 1,25; 1,0; 0,5; 0,4; 0,25 и 0,2 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы. Стандартные растворы для внесения готовят перед использованием.

8.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации форамсульфурона в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2; 0,1 и 0,07 мкг/см^3.

В инжектор хроматографа вводят по 10 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 10.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

8.4. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения форамсульфурона на них

8.4.1. *Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта.*

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через концентрирующий патрон № 1 не должна превышать 5 см^3/мин.

Концентрирующий патрон № 1 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в концентрирующих патрон № 1 вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон № 1 промывают 5 см^3 ацетонитрила, затем 10 см^3 воды. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности концентрирующего патрона № 1.

8.4.2. *Проверка хроматографического поведения форамсульфурона на концентрирующих патронах № 1.*

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора форамсульфурона в ацетонитриле с концентрацией 1,0 мкг/см^3 и упаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Сухой остаток растворяют в 5 см^3 0,05 М раствора двузамещенного фосфорнокислого калия, помещают концентратор на 5—10 секунд в ультразвуковую ванну, обмывают стенки концентратора и вносят раствор на подготовленный концентрирующий патрон № 1. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Исходный концентратор обмывают 10 см^3 0,005%-го водного раствора уксусной кислоты и вносят раствор на концентрирующий патрон № 1. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Концентрирующий патрон № 1 высушивают под вакуумом примерно 2 минуты.

Исходную колбу обмывают двумя порциями 0,1%-го раствора уксусной кислоты в ацетонитриле объемом 10 см^3 каждая и последовательно вносят их на концентрирующий патрон № 1. Элюаты собирают в концентратор объемом по 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Отдувают холодным воздухом до исчезновения запаха уксусной кислоты.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 см^3 смеси ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65 и 10 мм^3 хроматографируют.

Определяют фракции, содержащие форамсульфурон, полноту смывания с концентрирующего патрона № 1 и необходимый объем элюента.

Изучение поведения форамсульфурона на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов № 1.

IX. Отбор проб и хранение

9.1. Отбор проб производится в соответствии с утвержденными документами[2].

Пробы ботвы и корнеплодов сахарной свеклы хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С не более суток, для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре не выше –18 °С. Перед проведением анализа ботву и корнеплоды измельчают.

X. Выполнение определения

10.1. Ботва сахарной свеклы

10.1.1. *Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей.*

Образец измельченной ботвы массой 5 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, прибавляют 50 см^3 ацето-

[2] Унифицированные правила отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов, ГОСТ 33884.

нитрила и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 $см^3$ через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще двумя порциями ацетонитрила объемом по 50 $см^3$ по 5 минут в ультразвуковой ванне. Экстракты фильтруют и объединяют в делительной воронке объемом 250 $см^3$.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 50 $см^3$ гексана и встряхивают делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а нижний слой (ацетонитрил) возвращают в делительную воронку и повторяют процедуру еще раз, используя 50 $см^3$ гексана. Нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха при температуре не выше 40 °С.

10.1.2. *Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей.*

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 10.1.1, прибавляют 2 $см^3$ ацетонитрила, обмывают стенки концентратора, прибавляют 50 $см^3$ 0,05 М двузамещенного фосфорнокислого калия (pH 9), перемешивают и переносят смыв в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Водную фракцию промывают двумя порциями хлористого метилена по 30 $м^3$ каждая, встряхивая каждый раз делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) отбрасывают.

Водную фазу переносят в химический стакан объемом 250 $см^3$, прибавляют 30 $см^3$ дистиллированной воды и доводят pH раствора до значения 3 с помощью 2 М водного раствора ортофосфорной кислоты, контролируя pH. Раствор переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$.

Форамсульфурон экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку 2 минуты. В случае образования эмульсии хлористый метилен с эмульсией (нижний слой) собирают в плоскодонную колбу, объединяя экстракты, затем переносят в делительную воронку и выдерживают при комнатной температуре до полного разделения слоев. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают в концентратор объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, обмывают осушитель 10 $см^3$ хлористого метилена, элюаты объединяют и упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

10.1.3. *Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1.*

Сухой остаток, полученный по п. 10.1.2, растворяют в 5 $см^3$ 0,05 М раствора двузамещенного фосфорнокислого калия (pH 9), помещая кон-

центратор на 5—10 секунд в ультразвуковую ванну, обмывают стенки концентратора и вносят раствор на подготовленный концентрирующий патрон № 1. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 $см^3$ 0,005% водного раствора уксусной кислоты и вносят на концентрирующий патрон № 1. Элюат отбрасывают. Концентрирующий патрон № 1 высушивают под вакуумом примерно 2 минуты.

Форамсульфурон элюируют с концентрирующего патрона № 1 10 $см^3$ 0,1% раствора уксусной кислоты в ацетонитриле. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Отдувают током холодного воздуха до исчезновения запаха уксусной кислоты.

Сухой остаток растворяют в 2,5 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65 и 10 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

10.2. Корнеплоды сахарной свеклы

10.2.1. *Экстракция.*

Образец измельченных корнеплодов массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$ через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще двумя порциями ацетонитрила, используя каждый раз по 50 $см^3$ ацетонитрила и помещая на 5 минут в ультразвуковую ванну. Экстракты фильтруют, объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Далее проводят очистку экстракта как указано в п. 10.1.2.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65 и 10 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

10.3. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф жидкостной с диодно-матричным детектором, снабженный термостатом для колонок, с диапазоном температур от 15 до 80 °С и с возможностью использования стандартного автосамплера с дозирующим объемом от 0,1 до 100 $мм^3$ для автоматического ввода пробы в хроматографическую систему;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее

обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65 (по объему) при хроматографировании в изократическом режиме. Соотношение в режиме градиентного элюирования ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты (%, по объему): до 11 минуты – 35 : 65; с 11 по 17 минуту – 70 : 30; с 17 по 22 минуту – 35 : 65.

Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин.

Длина волны: 250 нм.

Чувствительность не менее 10 mAU (миллиединиц абсорбции) на шкалу.

Объем вводимой пробы: 10 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

Примечание. При хроматографировании проб корнеплодов сахарной свеклы длительность инъекции должна быть не менее 17 минут, для ботвы сахарной свеклы – не менее 30 минут при работе в изократическом режиме в указанных выше условиях хроматографирования, для того, чтобы выходящие в этот интервал времени матричные пики не искажали результат следующего хроматографического анализа.

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

XI. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется компьютерное программное обеспечение химического анализа, которое входит в хроматографическую систему.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание форамсульфурона в пробах рассчитывают по формуле, без учета полноты извлечения вещества из проб:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} P$$, где

X – содержание форамсульфурона в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/$см^3$;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;
m – масса анализируемого образца, г;
P – содержание форамсульфурона в аналитическом стандарте, %.

XII. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг или мг/дм^3;
r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8 \times \sigma_r$.

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

XIII. 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;

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

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:

– при определении остаточного количества форамсульфурона в корнеплодах сахарной свеклы содержание вещества в пробе менее 0,01 мг/кг;

Примечание: 0,01 мг/кг – предел обнаружения определяемой концентрации форамсульфурона в корнеплодах сахарной свеклы;

– при определении остаточного количества форамсульфурона в ботве сахарной свеклы содержание вещества в пробе менее 0,05 мг/кг.

Примечание: 0.05 мг/кг – предел обнаружения определяемой концентрации форамсульфурона в ботве сахарной свеклы.

XIV. Контроль качества результатов измерений

14.1. Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6.

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 двух образцов концентраций для градуировки, содержание форамсульфурона в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,07 до 1,0 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемых для контроля градуировочных растворов сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 10, \text{ где}$$

X – концентрация форамсульфурона контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора форамсульфурона в смеси ацетонитрила с 0,005 М водным раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

10 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов форамсульфурона, предусмотренных настоящими МУК. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 8.3.

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

$\Delta_1 = \pm 0{,}84\ \Delta$, где

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 12), содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

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.

14.3. 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 предела воспроизводимости (R):

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

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

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

Приложение

Полнота извлечения форамсульфурона из ботвы и корнеплодов сахарной свеклы (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено форамсульфурона, мг/кг	Обнаружено форамсульфурона, мг/кг	Полнота определения, %
Ботва сахарной свеклы	0,05	0,0425 ± 0,0015	85,1
	0,10	0,0857 ± 0,0025	85,7
	0,25	0,2133 ± 0,0083	85,3
	0,50	0,4364 ± 0,0024	87,3
Корнеплоды сахарной свеклы	0,01	0,0083 ± 0,0004	82,7
	0,02	0,0158 ± 0,0007	79,2
	0,05	0,0397 ± 0,0014	79,3
	0,10	0,0853 ± 0,0021	85,3

Нормативные и методические документы

1. ГН 1.2.3539—18 «Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень)».

2. ГН 2.2.5.3532—18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

3. Унифицированные правила отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов.

4. ГОСТ Р 8.563 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений».

5. ГОСТ ISO/IEC 17025 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий».

6. ГОСТ Р ИСО 5725-1-6 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений». Части 1—6.

7. РМГ 76 «Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

8. РМГ 61 «Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки».

9. ГОСТ 12.1.007 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

10. ГОСТ 12.1.019 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

11. ГОСТ 12.1.004 «Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования».

12. ГОСТ 12.4.009 «Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание».

13. ГОСТ 12.0.004 «Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения».

14. ГОСТ Р 53228 «Весы неавтоматического действия». Часть 1. «Метрологические и технические требования. Испытания».

15. ГОСТ 1770 «Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия».

16. ГОСТ 29227 «Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования».

17. ГОСТ 25336 «Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры».

18. ГОСТ 6709 «Вода дистиллированная. Технические условия».

19. ГОСТ 5556 «Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия».

20. ГОСТ 22967 «Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний».

21. ГОСТ 2493 «Реактивы. Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный. Технические условия».

22. ГОСТ 6552 «Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия».

23. ГОСТ 61 «Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия».

24. ГОСТ 4166 «Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия».

25. ГОСТ 4233 «Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия».

26. ГОСТ 4201 «Реактивы. Натрий углекислый кислый. Технические условия».

27. ГОСТ 4328 «Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия».

28. ГОСТ 33884 «Свекла сахарная. Технические условия».

gost.e-ecolog.ru