Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств метомила в зеленой массе и зерне кукурузы, семенах подсолнечника и в растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3521—17

Издание официальное

Москва • 2018

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 метомила в зеленой массе и зерне кукурузы, семенах подсолнечника и в растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3521—17

ББК 51.23
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств метомила в зеленой массе и зерне кукурузы, семенах подсолнечника и в растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—23 с.

ISBN 978–5–7508–1655–2

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К.А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (А. В. Довгилевич, Е. В. Довгилевич, Ю. Н. Савушкин, Е. Н. Тестова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 24 ноября 2017 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 29 декабря 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978–5–7508–1655–2

© Роспотребнадзор, 2018

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
29 декабря 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств метомила в зеленой массе и зерне кукурузы, семенах подсолнечника и в растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

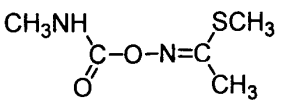
Методические указания
МУК 4.1.3521—17

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств метомила в зеленой массе в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в зерне кукурузы, семенах подсолнечника и в растительных маслах – в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг. Методические указания носят рекомендательный характер.

Метомил

S-метил N-[[(метиламино)карбонил]окси]этанимидотиоат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_5H_{10}N_2O_2S$.

Молекулярная масса: 162,2.

Агрегатное состояние: кристаллическое вещество.

Цвет, запах: белое вещество со слабым запахом серы.

Давление паров (при 25 °С): 0,72 МПа.

Температура плавления: 78—79 °С.

Коэффициент распределения октанол–вода: K_{ow} log P_{ow} = 0,093.

Растворимость в воде (г/дм^3, при 25 °С): 57,9.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 25 °С): метанол – 1 000; ацетон – 730; этанол – 420; изопропанол – 220; толуол – 30.

Метомил стабилен в воде в течение 30 дней (при 25 °С, pH 5 и 7); $ДТ_{50}$ около 30 дней (при 25 °С, pH 9). Термо- и фотостабилен.

Краткая токсикологическая характеристика. Метомил относится к веществам чрезвычайно опасным по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс – 34 мг/кг), умеренно опасным по дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов более 2 000 мг/кг) токсичностям и чрезвычайно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ (4 часа) для крыс 300 мг/м^3 воздуха).

Область применения. Метомил – инсектицид и акарицид из группы карбаматов, ингибитор холинэстеразы желудочно-кишечного действия.

Применяется в России в качестве инсектицида широкого спектра действия для борьбы с вредителями плодовых и цитрусовых культур, винограда, хлопчатника, кукурузы, риса, табака, овощных культур при норме расхода 1—2 л/га по препарату.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,01 мг/кг массы человека; ПДК в воде водоемов – 0,1 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,1 мг/кг; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,1 мг/м^3; в атмосферном воздухе – 0,001 мг/м^3; МДУ в продукции (мг/кг): лук – 0,2; томаты – 1,0; капуста – 0,03; виноград и плодовые семечковые – 0,3; горох – 1,0.

ВМДУ в импортируемой продукции (мг/кг): зерно кукурузы – 0,02, семена подсолнечника – 0,05.

1. Погрешность измерений

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

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

Таблица 1

Метрологические параметры для метомила

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, %
Зеленая масса кукурузы	0,02—0,05 вкл.	50	4	10	14
	0,1—0,2 вкл.	25	10	27	37
Зерно кукурузы	0,01—0,1 вкл.	50	4	12	17
Семена подсолнечника	0,01—0,1 вкл.	50	3	8	11
Растительные масла	0,01—0,1 вкл.	50	4	10	14

Таблица 2

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

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, ±, %
Зеленая масса кукурузы	0,02	0,01—0,1	85,0	5,8	2,3
Зерно кукурузы	0,01	0,01—0,1	75,0	3,7	1,3
Семена подсолнечника	0,01	0,02—0,1	78,1	1,9	0,7
Растительные масла	0,01	0,01—0,1	75,6	2,4	0,9

2. Метод измерений

Метод основан на определении метомила с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием диодно-матричного детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на колонках с флоризилом и окисью алюминия.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором колонки и условий программирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I) с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
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—08
Колбы мерные на 10, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки мерные на 1,0; 2,0 и 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф жидкостный 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 на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Метомил, CAS 16752-77-5, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,8 %	
Алюминий окись для хроматографии, ч	ТУ 6-09-3916—75
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, кислый, хч	ГОСТ 4201—79
Флоризил (Магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш	

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
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—81
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсо-	

ром 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 на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная длиной 150 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	
Предколонка хроматографическая с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18	
Стаканы стеклянные термостойкие объемом 100—2 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
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	ТУ-6-09-1678—86

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 электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—90 и 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». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации операторов

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

6. Условия измерений

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 % и нормальном атмосферном давлении;

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

7. Подготовка к выполнению измерений

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

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, 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 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.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 $см^3$ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 $г/дм^3$.

Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. 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.

7.1.4. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5%-го раствора натрия углекислого (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.

7.1.5. 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.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. Приготовление 2%-го раствора сульфата натрия.

В мерную колбу на 1 000 $см^3$ переносят 20 г безводного сульфата натрия, добавляют 200—300 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией метомила 1,0 мг/см^3.

Взвешивают 50 мг метомила в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используют для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранят в холодильнике в течение 120 суток.

7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией метомила 10,0 мкг/см^3.

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

7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией метомила 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 водой в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 3 используют для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранят в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией метомила 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 водой в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 4 используют для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 4 хранят в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией метомила 0,25 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с водой в соотношении 85 : 15. Стандартный раствор № 5

используют для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 5 хранят в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией метомила 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 водой в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 6 используют для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 6 хранят в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.2.7. Стандартные растворы метомила в ацетонитриле с концентрацией 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы. Стандартные растворы для внесения хранят в холодильнике не более 7 суток.

7.2.2.8. Стандартные растворы метомила в ацетоне с концентрацией 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы растительных масел.

Методом последовательного разведения ацетоном стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы растительных масел. Стандартные растворы для внесения хранят в холодильнике не более месяца.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации метомила в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,25 и 0,1 мкг/см^3.

В испаритель хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения метомила на ней

7.4.1. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г флоризила с зернением 60/100 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см.

За день перед использованием колонку промывают 15 $см^3$ ацетона, тщательно отжимают, а непосредственно перед использованием колонку промывают 15 $см^3$ гексана.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения метомила на колонке с флоризилом

В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора метомила в ацетонитриле с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 4 $см^3$ гексана, перемешивают и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С. Исходную колбу обмывают 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, вносят на колонку. Затем колонку последовательно промывают шестью порциями смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2 объемом 5 $см^3$ каждая. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие метомил, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

Изучение поведения метомила на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии флоризила.

7.5. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения метомила на ней

7.5.1. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 5 г окиси алюминия с зернением 40/250 меш и, аккуратно посту-

кивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 $см^3$ ацетонитрила.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения метомила на колонке с окисью алюминия

В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора метомила в ацетонитриле с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходный концентратор последовательно обмывают пятью порциями по 5 $см^3$ ацетонитрила. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы объемом по 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие метомил, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

Изучение поведения метомила на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии окиси алюминия.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб проводится 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, а также в соответствии с ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма для животных. Отбор проб», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 22391—89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 1129—13 «Масло подсолнечное. ТУ», ГОСТ 8808—2000 «Масло кукурузное. ТУ», ГОСТ Р 53510—09 «Масло соевое. ТУ», ГОСТ 32190—13 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы зеленой массы кукурузы хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С в течение суток. Для дли-

тельного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С.

Отобранные пробы семян подсолнечника и зерна кукурузы подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

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

9. Выполнение определения

9.1. Зеленая масса и зерно кукурузы

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец измельченной зеленой массы массой 10 г или зерна кукурузы массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 30 минут на аппарат для встряхивания проб. Ацетонитрильный экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 $см^3$ через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют двумя порциями ацетонитрила объемом по 40 $см^3$ каждая, помещая каждый раз на 15 минут на аппарат для встряхивания проб. 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 до водного остатка при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.1, растворяют в 3 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 50 $см^3$ 2%-го раствора сульфата натрия, тщательно обмывая стенки концентратора, и переносят смыв в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Затем концентратор обмывают еще 50 $см^3$ 2%-го раствора сульфата натрия, и все смывы объединяют в делительной воронке.

Метомил экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 $см^3$, каждый раз встряхивая делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия. Осушитель обмывают 10 $см^3$ хлористого метилена, объединяют смыв с основным экстрактом и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку пробы на колонках с флоризилом.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 4 $см^3$ гексана, перемешивают и вносят на подготовленную колонку. Колонку промывают сначала 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, а затем 5 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, элюаты отбрасывают. Метомил элюируют с колонки 25 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.4. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия

Сухой остаток, полученный в п. 9.1.3, растворяют в 5 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и вносят на подготовленную колонку с 5 г окиси алюминия, элюат отбрасывают. Метомил элюируют с колонки 25 $см^3$ ацетонитрила, элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.2. Растительные масла

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Из пробы растительного масла отбирают навеску массой 20 г и помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$. Навеску растворяют в 50 $см^3$ гексана, прибавляют туда 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на аппарат для встряхивания проб на 10 минут. После этого содержимое банки переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. После полного разде-

ления фаз в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой собирают в стакан объемом 250 $см^3$, а верхний слой (гексан) возвращают в банку для экстракции объемом 250 $см^3$ и повторяют экстракцию дважды в тех же условиях. Ацетонитрил объединяют в стакане объемом 250 $см^3$, а гексан отбрасывают.

Объединенный ацетонитрильный экстракт возвращают в чистую делительную воронку объемом 250 $см^3$ и промывают двумя порциями гексана объемом 50 $см^3$, встряхивая делительную воронку 2 минуты. Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия и выпаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта как указано в п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей» и п. 9.1.4 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия».

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Семена подсолнечника

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных семян массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 10 минут в ультразвуковую ванну, а затем на аппарат для встряхивания проб на 5 минут. Ацетонитрильный экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$ через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют двумя порциями ацетонитрила объемом по 50 $см^3$ каждая, помещая каждый раз на 10 минут в ультразвуковую ванну, а затем на аппарат для встряхивания проб на 5 минут. Экстракты фильтруют и объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и выпаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.3.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К масляному остатку в концентраторе, полученному по п. 9.3.1, прибавляют 50 $см^3$ гексана, перемешивают, тщательно обмывая стенки концентратора, и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Метомил экстрагируют тремя порциями ацетонитрила объемом по 20 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (ацетонит-

рил) объединяют в конической колбе объемом 250 см^3. Гексан отбрасывают.

Ацетонитрильный экстракт переносят в чистую делительную воронку объемом 250 см^3 и промывают двумя порциями гексана по 50 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая воронку 2 минуты. Ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 см^3, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта как указано в п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей», 9.1.3 «Очистка экстракта на колонке с флоризилом» и п. 9.1.4 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия».

Сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 15 : 85 и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.4. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф жидкостный 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 100,0 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 150 мм с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Предколонка хроматографическая с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода в соотношении 15 : 85.

Скорость потока элюента: 0,7 см^3/мин.

Длина волны: 233 нм.

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

Объем вводимой пробы: 20 мм^3.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

10. Обработка результатов

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

Альтернативная обработка результатов.

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

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

X – содержание метомила 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 (см^3);

P – содержание метомила в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8 \times \sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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:

«*содержание вещества в пробе менее 0,01 мг/кг**».

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики 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 метомила в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,1 до 1,0 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 3, \text{ где}$$

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

C – известная концентрация градуировочного раствора метомила в смеси ацетонитрила с водой в соотношении 15 : 85, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

3 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 3 %, 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 ме-

томила, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют 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 $C_д$ 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:

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

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. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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, приво-

дящие 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 предела воспроизводимости (*R*):

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

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

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

Приложение 1

Полнота извлечения метомила из зеленой массы, зерна кукурузы, семян подсолнечника и растительных масел
(5 повторностей для каждой концентрации, P = 0,95)

Среда	Внесено метомила, мг/кг	Обнаружено метомила, мг/кг	Полнота определения, %
Зеленая масса кукурузы	0,02	0,0176 ± 0,0008	87,8
	0,05	0,0426 ± 0,0008	85,3
	0,1	0,0867 ± 0,0014	86,7
	0,2	0,1602 ± 0,0191	80,1
Зерно кукурузы	0,01	0,0075 ± 0,0004	75,0
	0,025	0,0188 ± 0,0005	75,2
	0,05	0,0387 ± 0,0017	77,4
	0,1	0,0725 ± 0,0014	72,5
Семена подсолнечника	0,02	0,0078 ± 0,0001	78,3
	0,05	0,0196 ± 0,0005	78,4
	0,1	0,0387 ± 0,0014	77,4
	0,2	0,0784 ± 0,0011	78,4
Растительные масла	0,01	0,0076 ± 0,0003	76,0
	0,025	0,0189 ± 0,0006	75,4
	0,05	0,0377 ± 0,0011	75,4
	0,1	0,0755 ± 0,0017	75,5

Определение остаточных количеств метомила в зеленой массе и зерне кукурузы, семенах подсолнечника и в растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3521—17

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 20.12.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5
Тираж 100 экз. Заказ 72

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) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru