Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств димоксистробина и боскалида при их совместном присутствии в воде, почве, семенах подсолнечника и рапса, растительных маслах методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2538—09

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

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

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств димоксистробина и боскалида при их совместном присутствии в воде, почве, семенах подсолнечника и рапса, растительных маслах методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2538—09

ББК 51.21
О63

О63 **Определение** остаточных количеств димоксистробина и боскалида при их совместном присутствии в воде, почве, семенах подсолнечника и рапса, растительных маслах методом капиллярной газожидкостной хроматографии:.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—22 с.

1. Разработаны Федеральным научным центром гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана (авторы Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Горячева Л. В.).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 июня 2009 г. № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 4 сентября 2009 г.

4. Введены в действие с 4 ноября 2009 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

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

Содержание

1. Погрешность измерений 6
2. Метод измерений 8
3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы 8
3.1. Средства измерений 8
3.2. Реактивы 9
3.3. Вспомогательные устройства, материалы 9
4. Требования безопасности 10
5. Требования к квалификации операторов 11
6. Условия измерений 11
7. Подготовка к выполнению измерений 11
7.1. Очистка органических растворителей 11
7.2. Приготовление 2 N раствора гидроксида калия 12
7.3. Приготовление 0,1 %-го раствора марганцовокислого калия 12
7.4. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения 12
7.5. Установление градуировочных характеристик 13
7.6. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов 14
7.7. Проверка хроматографического поведения димоксистробина и боскалида на колонке с силикагелем 14
8. Отбор и хранение проб 15
9. Выполнение определения 15
9.1. Вода 15
9.2. Почва 16
9.3.Семана подсолнечника и рапса 17
9.4. Растительное масло 18
9.5 Условия хроматографирования 19
10. Обработка результатов анализа 19
11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений 20
12. Оформление результатов 20
13. Контроль качества результатов измерений 21
14. Разработчики 22

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
4 сентября 2009 г.
Дата введения: 4 ноября 2009 г

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

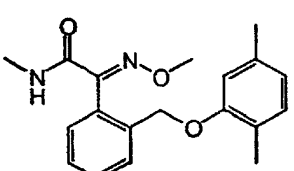
Определение остаточных количеств димоксистробина и боскалида при их совместном присутствии в воде, почве, семенах подсолнечника и рапса, растительных маслах методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2538—09

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения остаточных количеств димоксистробина и боскалида в воде в диапазоне 0,005—0,05 мг/дм^3, почве – 0,01—0,1 мг/кг, семенах подсолнечника и рапса, растительных маслах в диапазонах 0,01—0,1 мг/кг (димоксистробин), 0,05—0,5 мг/кг(боскалид).

Димоксистробин

(E)-o-(2,5-диметилфеноксиметил)-2-метоксимино-N-метилфенилацетамид (IUPAC)



$C_{19}H_{22}N_2O_3$.
Мол. масса: 326,4.

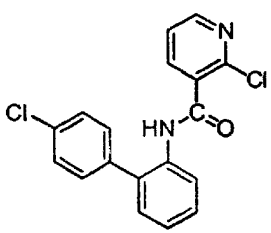
Димоксистробин представляет собой белое кристаллическое вещество без запаха. Давление паров – 6×10^{-4} мПа (при 20 °С) и $1,4 \times 10^{-3}$ мПа (при 25 °С). Плотность 1,23 (при 25 °С). Температура плавления ≈ 138,1—139,7 °С. Растворимость в воде – 4,3 мг/дм^3 (при pH 5, 7, 20 °С). Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 20 °С): н-гептан, 1-октанол, 2-пропанол < 10; ацетон – 67—80, этилацетат – 33—40, метанол – 20—25, дихлорметан > 250, ацетонитрил 50—57, диметилформамид 200—250. Коэффициент распределения н-октанол/вода $K_{ow}\log P = 3,59$. Гидролитически стабилен при отсутствии света при температуре 50 °С (pH 4, 7 и 9) в течение 5 дней, при температуре 25 °С – в течение 30 дней.

Краткая токсикологическая характеристика.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 2 000 мг/кг, острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – > 1,7 мг/дм^3 (4 ч).

Боскалид

2-хлор-N-(4-хлорбифенил-2-ил)никотинамид (IUPAC)



$C_{18}H_{12}Cl_2N_2O$.

Мол. масса: 343,2.

Боскалид представляет собой белое кристаллическое вещество без запаха. Давление паров – $7,2 \times 10^{-4}$ мПа (при 25 °С). Плотность 1,38 (при 20 °С). Температура плавления 142,8—143,8 °С. Растворимость в воде – 4,64 г/дм^3 (при pH 6,0, 20 °С). Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 25 °С): ацетон – 160—200, ацетонитрил – 40—50, метанол – 40—50, дихлорметан – 200—250. Коэффициент распределения н-октанол/вода $K_{ow}\log P = 2,96$ (при pH 7,0—7,2). Гидролитически стабилен при отсутствии света при температуре 50 °С (pH 4, 7 и 9) в течение 5 дней, при температуре 25 °С (pH 5, 7 и 9) – в течение 30 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 5 000 мг/кг, острая дермальная токсич-

ность (LD_{50}) для крыс – > 2 000 мг/кг, острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – > 6,7 мг/дм^3 (4 ч).

Область применения:

Димоксистробин – высокоэффективный системный фунгицид длительного действия, применяемый для борьбы против различных возбудителей инфекционных заболеваний на рапсе и подсолнечнике.

Боскалид – высокоэффективный контактный фунгицид длительного действия, применяемый для борьбы против различных возбудителей болезней на рапсе и подсолнечнике.

Рекомендуемые гигиенические нормативы:

ОДК в воде водоемов димоксистробин – 0,02 мг/дм^3 (органолепт).

ОДК в воде водоемов боскалид – 0,02 мг/дм^3 (органолепт).

ОДК в почве димоксистробин – 0,14 мг/кг.

ОДК в почве боскалид – 0,9 мг/кг.

МДУ в семенах и масле подсолнечника, рапса димоксистробин – 0,05 мг/кг.

МДУ в семенах и масле подсолнечника, рапса боскалид – 0,5 мг/кг.

1. Погрешность измерений

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
1	2	3	4	5	6
димокстробин					
Вода	от 0,005 до 0,01 вкл.	100	3,8	11	14
	более 0,01 до 0,05 вкл.	50	3,4	10	12
Почва	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,9	9	11

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6
Семена подсолнечника	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,0	9	11
Семена рапса	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,3	12	15
Растительные масла	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	11	14
боскалид					
Вода	от 0,005 до 0,01 вкл.	100	3,0	9	11
	более 0,01 до 0,05 вкл.	50	3,8	11	14
Почва	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,3	12	15
Семена подсолнечника	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,4	10	12
	от 0,1 до 0,5 вкл.	25	4,9	14	17
Семена рапса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	4,8	14	17
	от 0,1 до 0,5 вкл.	25	5,8	17	21
Растительные масла	от 0,05 д 0,1 вкл.	50	3,4	10	12
	от 0,1 до 0,5 вкл.	25	4,6	13	16

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
1	2	3	4	5	6
димокстробин					
Вода	0,005	0,005—0,05	84,30	2,8	1,5

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6
Почва	0,01	0,01—0,1	82,76	2,4	1,3
Семена подсолнечника	0,01	0,01—0,1	81,85	2,2	1,3
Семена рапса	0,01	0,01—0,1	81,58	3,1	1,7
Растительные масла	0,01	0,01—0,1	80,83	2,5	1,4
боскалид					
Вода	0,005	0,005 – 0,05	83,78	3,1	1,7
Почва	0,01	0,01-0,1	83,85	3,2	1,7
Семена подсолнечника	0,05	0,05 – 0,5	83,13	3,7	2,0
Семена рапса	0,05	0,05 – 0,5	83,24	4,3	2,3
Растительные масла	0,05	0,05 – 0,5	82,83	3,5	1,9

2. Метод измерений

Методика основана на определении димоксистробина и боскалида при их совместном присутствии с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронозахватным детектором (ЭЗД) после экстракции из анализируемых проб воды дихлорметаном, семян подсолнечника, рапса и растительного масла ацетонитрилом, почвы – смесью метанол-вода, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл-2 000 М», снабженный электоронозахватным детектором с *пределом детектирования по линдану* 5×10^{-14} г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	Номер в Государственнс реестре средств измерен 14516-95

Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Меры массы	ГОСТ 7328
Микрошприц типа МШ-1М, вместимостью 1 мм^3	ТУ 2.833.105
Колбы мерные 2-100-2 вместимостью 100 см^3	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2 класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 см^3	ГОСТ 29227
Цилиндры мерные 2 класса точности вместимостью 25, 50, 100 и 250 см^3	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Димоксистробин, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,7 % (фирма «БАСФ»)	
Боскалид, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 100% (фирма «БАСФ»)	
Азот особой чистоты, из баллона	ГОСТ 9293
Ацетонитрил, осч «УФ-210 нм»	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6790
Калий гидроксид, осч 18-3	ОСТ 6-01301
Калий марганцовокислый (перманганат калия)	ГОСТ 20490
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий сернокислый безводный, хч	ГОСТ 4166-78
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-4521—77
Силикагель, «Silica gel 60» для колоночной хроматографии, 60—100 меш («Serva»)	
Этиловый эфир уксусной кислоты, ректификованный (этилацетат)	ГОСТ 22300

Возможно использование реактивов более высокой квалификации, которые не требуют выполнения п. 7.1. (очистка растворителей).

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Баня водяная	
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	

Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги	
Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678—77
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100, 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 9737
Воронки конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Колба Бунзена	ГОСТ 56145
Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 400—500 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236—79
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30.	
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Стаканы химические с носиком, вместимостью 100, 150 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336
Сито с диаметром отверстий 1 мм	
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая колонка капиллярная DB-5, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм	

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

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

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе на должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно-допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на газовом хроматографе.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, градуировочных растворов и растворов внесения, установление градуировочных характеристик, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения димоксистробина и боскалида на колонке.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка гексана. Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты, до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.2. Очистка этилацетата. Этилацетат промывают последовательно 5 %-м водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.3. Очистка ацетонитрила. Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Приготовление 2 N раствора гидроксида калия

В мерную колбу вместимостью 250 $см^3$ помещают 28 г гидроксда калия, растворяют в 100—150 $см^3$ деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Приготовление 0,1 %-го раствора марганцовокислого калия

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,1 г марганцовокислого калия, растворяют в 50—70 $см^3$ деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.4. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.4.1. Исходный раствор димоксистробина для градуировки (концентрация 250 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,025 г димоксистробина, растворяют в 50—60 $см^3$ этилацетата, доводят этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

7.4.2. Исходный раствор боскалида для градуировки (концентрация 250 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0, 025 г боскалида, растворяют в 50—60 $см^3$ этилацетата, доводят этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 С в течение месяца.

7.4.3. Раствор № 1 димоксистробина для градуировки (концентрация 25 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора димоксистробина с концентрацией 250 мкг/$см^3$ (п. 7.2.1), разбавляют этилацетатом до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

7.4.4. Раствор № 2 боскалида для градуировки (концентрация 25 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора боскалида с концентрацией 2 500 мкг/$см^3$ (п. 7.2.2), разбавляют этилацетатом до метки.

Градуировочный раствор № 2 хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

7.4.5. Рабочие растворы № 3—6 димоксистробина и боскалида для градуировки (концентрация по 0,25—2,5 мкг/см^3 каждого вещества). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0; 2,0; 4,0 и 10,0 см^3 градуировочных растворов № 1 и 2 с концентрацией 25 мкг/см^3 (п.п. 7.4.3 и 7.4.4), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 3—6 с концентрациями по 0,25; 0,5; 1,0 и 2,5 мкг/см^3 каждого вещества соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 14 дней.

7.4.6. Рабочий раствор № 7 димоксистробина и боскалида для внесения (концентрация по 2,5 мкг/см^3 каждого вещества). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0 см^3 исходных растворов димоксистробина и боскалида с концентрацией 250 мкг/см^3 (п.п. 7.4.1 и 7.4.2), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочий растворы № 7 с концентрацией по 2,5 мкг/см^3 каждого вещества соответственно.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 С в течение 14 дней.

Раствор № 7 используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества из проб воды и почвы методом «внесено-найдено».

7.4.6. Рабочий раствор № 8 димоксистробина и боскалида для внесения (концентрация димоксистробина 0,5 мкг/см^3, боскалида 2,5 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 2,0 см^3 градуировочного раствора димоксистробина № 1 и 10,0 см^3 градуировочного раствора боскалида № 2 с концентрацией 250 мкг/см^3 (п.п. 7.4.3 и 7.4.4), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочий растворы № 8 с концентрацией димоксистробина 0,5 мкг/см^3, боскалида 2,5 мкг/см^3.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 14 дней.

Раствор № 8 используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества из проб семян и масла почвы методом «внесено-найдено».

7.5. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика (мВ·сек) от концентрации димоксистробина и боскалида в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков димоксистробина и боскалида.

Градуировочные графики проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значения площадей отличаются более, чем на 7 % (димоксистробин) и 9 % (боскалид) от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.6. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 4 г силикагеля в 20 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия массой 1 г. Колонка готова к работе.

7.7. Проверка хроматографического поведения димоксистробина и боскалида на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают по 0,2 см^3 растворов № 1 и 2 димоксистробина и боскалида для внесения с концентрацией 25 мкг/см^3 (п.п. 7.4.3 и 7.4.4), добавляют 5 см^3 гексана, перемешивают и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды гексаном по 2,5 см^3, которые также наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 20 см^3 гексана, 20 см^{3}смеси гексан–этилацетат (8 : 2 по объему), элюаты отбрасывают.

Затем колонку промывают 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 кап./сек. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см^3 этилацетата, анализируют содержание действующих веществ по п. 9.5.

Фракции, содержащие димоксистробин и боскалид, объединяют и вновь анализируют.

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

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

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями: вода – ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», почва – ГОСТ 1743.01—83 «Почва, общие требования к отбору проб», ГОСТ 26950—89 «Почвы. Отбор проб», подсолнечник – ГОСТ 22391—89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», рапс – ГОСТ 10583—76 «Рапс. Требования при заготовках и поставках», масло – ГОСТ Р 52062—2003 «Масло растительное. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р 52465—2005 «Масло подсолнечное. Технические условия», ГОСТ 8988—2002 «Масло рапсовое. Технические условия» и Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051—79 от 21.08.79 г).

Отобранные пробы воды, почвы, семян подсолнечника и рапса хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более недели. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Пробы масла хранят в закрытой стеклянной емкости при температуре 4—6 °С в темноте.

Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, почвы – просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, семена рапса и подсолнечника измельчают на лабораторной мельнице.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

9.1.1. Экстракция. Образец отфильтрованной воды объемом 250 $см^3$ помещают делительную воронку на 500 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После разделения фаз нижний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют дважды, используя по 50 $см^3$ хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 35 °С и подвергают дополнительной очистке по п. 9.1.2.

9.1.2. Очистка экстракта на колонке с силикагелем. Остаток, полученный по п. 9.1.1, 9.2.2 или 9.3.2, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 0,5 см^3 этилацетата, помещая на ультразвуковую баню на 1 мин, добавляют 5 см^3 гексана, перемешивают. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды гексаном порциями по 2,5 см^3, которые также наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 20 см^3 гексана, 20 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2 по объему), элюаты отбрасывают.

Димоксистробин и боскалид элюируют с колонки 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 кап./сек, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100—150 см^3, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 этилацетата (исследование воды), 1 см^3 этилацетата (исследование почвы) и анализируют на содержание боскалида и димоксистробина в условиях хроматографирования по п. 9.5 1 см^3. Пробы семян и масла рапса растворяют в 5 см^3 этилацетата и анализируют на содержание боскалида. Для определения остаточных количеств димоксистробина пробы семян и масла рапса подвергают дополнительной очистке по п. 9.3.3.

9.2. Почва

9.2.1. Экстракция. Образец почвы массой 25 г помещают в круглодонную колбу вместимостью 500 см^3, вносят 100 см^3 смеси метанол–вода (9 : 1, по объему), помещают на встряхиватель на 1 ч. Полученный экстракт (надосадочная жидкость) осторожно декантируют, фильтруют на воронке Бюхнера через двойной бумажный фильтр «красная лента» под вакуумом. Осадок на фильтре возвращают в колбу и повторяют экстракцию дополнительной порцией смеси метанол–вода (9 : 1, по объему) объемом 50 см^3, выдерживая на встряхивателе 15 мин. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через бумажный фильтр «красная лента», осадок на фильтре промывают 20 см^3 этой же смеси.

Экстракт переносят в круглодонную колбу вместимостью 250—300 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Экстракт, полученный по п. 9.2.1 и помещенный в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (~5—10 см^3) при температуре не выше 40 °С, внимательно следя за процессом и не допуская переброса жидкости при вспенивании. Водный остаток переносят в делительную воронку

вместимостью 250 см^3, добавляют 40 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, 20 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 20 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха и подвергают дополнительной очистке по п. 9.1.2.

9.3. Семана подсолнечника и рапса

9.3.1. Экстракция. Образец измельченных семян массой 25 г помещают в коническую колбу вместимостью 200—250 см^3, вносят 50 см^3 ацетонитрила и помещают на встряхиватель на 1 ч. Полученный экстракт (надосадочная жидкость) фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через бумажный фильтр «красная лента». Осадок на фильтре возвращают в коническую колбу и повторяют экстракцию дополнительной порцией ацетонитрила объемом 30 см^3, выдерживая на встряхивателе 20 мин. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через бумажный фильтр «красная лента», осадок на фильтре промывают 10 см^3 ацетонитрила. Объединенный отфильтрованный экстракт подвергают очистке по п. 9.3.2.

9.3.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Объединенный отфильтрованный экстракт, полученный по п. 9.3.1 или 9.4.1, переносят в делительную воронку вместимостью 500 см^3, добавляют 30 см^3 гексана (насыщенного ацетонитрилом), интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, перенося в коническую колбу. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильную фазу вновь переносят в делительную воронку и повторяют операцию промывки, используя 25 см^3 гексана (насыщенного ацетонитрилом). Ацетонитрильный раствор переносят в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3, упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С и подвергают очистке на колонке с силикагелем по п. 9.1.2. Очищенную по п. 9.1.2 пробу перед хроматографированием растворяют в 5 см^3 этилацетата и анализируют на содержание боскалида в условиях хроматографирования по п. 9.5. Для определения димоксистробина растворитель упаривают и пробу подвергают дополнительной очистке по п. 9.3.3.

9.3.3. Очистка экстракта окислением и перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Остаток, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 20 см^3 гексана, переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, колбу ополаскивают еще 10 см^3 гексана, растворы объединяют в воронке. Добавляют 10 см^3 2 N водного раствора КОН и 5 см^3 0,1 % водного раствора $KMnO_4$, интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 3 мин, нижний водный слой отбрасывают, верхний гексановый слой собирают, фильтруя через безводный сульфат натрия, помещенный на бумажном фильтре «красная лента» в конусной воронке, и переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3.

К гексановому раствору в воронке добавляют 30 см^3 ацетонитрила, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, собирая в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Экстракцию повторяют дважды порциями ацетонитрила по 25 и 20 см^3.

Объединенный ацетонитрильный экстракт упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 этилацетата (исследование семян и масла рапса) и анализируют на содержание димоксистробина в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.4. Растительное масло

9.4.1.Экстракция. Образец масла массой 25 г помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 гексана, вносят 30 см^3 ацетонитрила (насыщенного гексаном) и интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После полного разделения фаз верхний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан вместимостью 200—250 см^3. Экстракцию повторяют дважды дополнительными порциями ацетонитрила (насыщенного гексаном) объемом 20 см^3. Объединенный отфильтрованный экстракт подвергают очистке по п. 9.3.2, затем упаривают досуха и подвергают очистке на колонке с силикагелем по п. 9.1.2. Очищенную пробу перед хроматографированием растворяют в 5 см^3 этилацетата и анализируют на содержание боскалида в условиях хроматографирования по п. 9.5. Для определения димоксистробина пробу упаривают досуха и подвергают дополнительной очистке по п. 9.3.3, сухой остаток растворяют в 1 см^3 этилацетата и хроматографируют в условиях п. 9.5.

9.5 Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный электронозахватным детектором.

Колонка капиллярная DB-5, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм.

Температура детектора: 310 °С.

Температура испарителя: 270 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 100 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 20 °С/мин до температуры 200 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 20 °С/мин до температуры 280 °С, выдержка 9 мин.

Скорость газа 1 (азот): 38,2 см/с, давление 120,5 кПа, поток 1,5 $см^3$/мин.

Газ 2: деление потока 1 : 5; сброс 7,5 $см^3$/мин.

Ориентировочное время выхода:

димоксистробин – ~ 12,55 мин;

боскалид – ~ 15,90 мин.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,25—2,5 нг (для каждого вещества).

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочные растворы димоксистробина и боскалида с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, разбавляют этилацетатом (не более чем в 50 раз).

10. Обработка результатов анализа

Содержание димоксистробина или боскалида в пробе воды, почвы, семян подсолнечника, рапса, масла (X, мг/$дм^3$, мг/кг) рассчитывают по формуле:

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

X – содержание димоксистробина или боскалида в пробе воды, почвы, семян подсолнечника, рапса, масла, мг/$дм^3$ и мг/кг;

A – концентрации димоксистробина или боскалида, найденные по градуировочным графикам в соответствии с величинами площадей хроматографических пиков, мкг/$см^3$;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, $см^3$;

m – объем (масса) анализируемого образца, $см^3$ (г).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2\times|X_1 - X_2|\times 100}{(X_1 + X_2)} \le r, \text{ где}$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/дм^3, мг/кг;

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/дм^3 или мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/дм^3 или мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3 или мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta \times X}{100},$$

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

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание димоксистробина в пробе воды менее 0, 005 мг/дм^3, почвы, семян подсолнечника и рапса, масла – менее 0,01 мг/кг»**

*«содержание боскалида в пробе воды менее 0, 005 мг/дм^3, почвы – менее 0,01 мг/кг, семян подсолнечника и рапса, масла – менее 0,05 мг/кг»***

** - 0,005 мг/дм^3 и 0,01 мг/кг – пределы обнаружения димоксистробина в воде, почве, семенах подсолнечника, рапса, масле, соответственно.*

*** - 0,005 мг/дм^3, 0,01 мг/кг, 0,05 мг/кг – пределы обнаружения боскалида в воде, почве, семенах подсолнечника, рапса, масле соответственно.*

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 прецинзионность) методов и результатов измерений».

13.1. Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}\left(\pm\Delta_{л,\bar{X}'}\right)$ – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/дм^3 или мг/кг, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3 или мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta \times X}{100},$$

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

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

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, концентрация добавки, соответственно, мг/дм^3 или 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_k) с нормативом контроля (K).

Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию

$$|K_k| \le K \qquad (1)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (1) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (1) 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*)

$$\frac{2\times|X_1 - X_2|\times 100}{(X_1 + X_2)} \le R \text{ ,где}$$

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/дм^3 или мг/кг;

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

14. Разработчики

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Горячева Л.В. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана).

Определение остаточных количеств димоксистробина и боскалида при их совместном присутствии в воде, почве, семенах подсолнечника и рапса, растительных маслах методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2538—09

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 01.12.09

Формат 60x88/16 *Печ. л.* 1,5

Тираж 200 экз.

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

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru