Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств метконазола в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах, масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2407—08

Издание официальное

Москва • 2009

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 метконазола в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах, масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2407-08

ББК 51.21
О-60

О-60 Определение остаточных количеств метконазола в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах, масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 19 с.

1. Разработаны Федеральным научным центром гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана (авторы Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н., 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 3.07.2008 № 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 17 июля 2008 г.

4. Введены в действие с 1 сентября 2008 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 **Печ.** л. 1,25

Тираж 200 **экз.**

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

Тиражировано отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89.

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

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный Государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г.Г. Онищенко
17 июля 2008 г.
Дата введения: 1 сентября 2008 г.

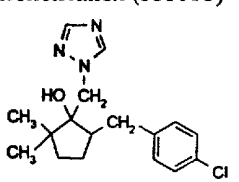
4.1. Методы контроля. Химические факторы

Определение остаточных количеств метконазола в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах, масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2407-08

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения остаточных количеств метконазола в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах и масле рапса в диапазонах 0,003 – 0,03 мг/дм^3; 0,01 – 1,0 мг/кг; 0,05 – 0,5 мг/кг; 0,01 – 1,0 мг/кг и 0,075 – 0,75 мг/кг, соответственно.

(1RS,5RS;1RS,5SR)-5-(4-хлорбензил)-2,2-диметил-1-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил) циклопентанол (IUPAC)



$C_{17}H_{22}ClN_3O$
Мол. масса 319.8

Смесь цис- и транс- изомеров. Кристаллический порошок белого цвета, без запаха. Технический продукт представляет собой смесь цис-

и транс- изомеров, в которой преобладает цис- метконазол (80:20). Плотность 1.4 (при 0 °С). Температура плавления 100-108 °С. Давление паров $1.23 \cdot 10^{-2}$ мПа (при 20 °С). Растворимость в воде 30.4 мг/см^3 (при 20 °С, pH 7,5). Коэффициент распределения н-октанол – вода K_{ow}logP = 3,85 (при 25 °С). Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 24 °С): этилацетат-260, метанол-403, ацетон-363, дихлорметан-481. Термически и гидролитически стабилен.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 660 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - 2000 мг/кг, остарая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс > 5,6 мг/дм^3 (4 ч).

Область применения:

Метконазол – высокоэффективный системный фунгицид, проявляющий активность против фузариума, септорий, альтернарий, церкоспореллы, мучнистой росы, применяемый на озимом рапсе, озимой пшенице и яровом ячмене путем наземного опрыскивания в период вегетации.

Рекомендуемые гигиенические нормативы:

ПДК в воде водоемов - 0,006 мг/дм^3 (общ.)

ОДК в почве – 0,2 мг/кг

ВМДУ зерне зерновых – 0,1 мг/кг

в семенах и масле рапса - 0,15 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 таблице 1 для соответствующих диапазонов концентраций.*

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P=0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Вода	от 0,003 до 0,01 вкл.	100	4,9	13,3	15,9

	более 0,01 до 0,03 вкл.	50	4,8	13,2	15,7
Почва	более 0,1 до 1,0 вкл.	25	6,1	16,8	20,0
Солома зерновых	более 0,1 до 1,0 вкл.	25	7,7	21,2	25,3
Зерно зерновых	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	8,1	22,4	26,7
	более 0,1 до 0,5 вкл.	25	7,0	19,4	23,0
Семена рапса	от 0,075 до 0,1 вкл.	50	7,7	21,2	25,4
	более 0,1 до 0,75 вкл.	25	9,5	26,3	31,3
Масло рапса	от 0,075 до 0,1 вкл.	50	4,8	13,5	16,1
	более 0,1 до 0,75 вкл.	25	7,5	20,9	24,8

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

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/дм^3, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,003	0,003 – 0,03	87,39	3,7	2,0
Почва	0,1	0,1 - 1,0	86,29	3,8	2,1
Солома зерновых	0,1	0,1 - 1,0	87,13	5,0	2,7
Зерно зерновых	0,05	0,05 – 0,5	90,69	6,1	3,3
Семена рапса	0,075	0,075 – 0,75	88,33	6,8	3,9
Масло рапса	0,075	0,075-0,75	90,5	4,8	2,5

2. Метод измерений

Методика основана на определении метконазола с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) после экстракции из анализируемых проб семян и масла рапса ацетонитрилом, почвы, зерна и соломы зерновых – смесью ацетон-гексан, воды – дихлорметаном, 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-2000М», снабженный термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле $5 \cdot 10^{-13}$ г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	Номер в Государственном реестре средств измерений 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 и 2-500-2 вместимостью 100 и 500 см^3	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 см^3	ГОСТ 29227
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 250 и 1000 см^3	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

транс-Метконазол, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,1%, (фирма «BASF»)	
цис-Метконазол, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,3%, (фирма «BASF»)	
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
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 (0,2-0,5 мм)	
Этиловый эфир уксусной кислоты, ректификованный	ГОСТ 22300
Эфир диэтиловый (для наркоза)	Фармакопея СССР

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

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, 500 и 1000см^3	ГОСТ 9737
Воронки конусные диаметром 40-45 мм	ГОСТ 25336
Генератор водорода	
Груша резиновая	
Колба Бунзена	ГОСТ 56145
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см^3	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 100, 250 и 500 см^3	ГОСТ 9737
Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10-12 мм	
Компрессор	
Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236-79
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Ректификационная колонна с числом теоретических таре-	

лок не менее 50
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария
Стаканы химические с носиком, вместимостью 100 и 150 см^3 ГОСТ 25336
Сито с диаметром отверстий 1мм
Стекловата
Стеклянные палочки
Установка для перегонки растворителей
Хроматографическая колонка капиллярная ZB-50, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 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 метконазола 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%-ным 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 50.

7.1.3. Очистка ацетонитрила

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

7.2. Приготовление градуировочных растворов

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

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

Растворы хранят в морозильной камере при температуре < -15 °С в течение месяца.

7.2.3. Раствор № 1 цис-метконазола для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 4 см^3 исходного раствора цис-метконазола с концентрацией 250 мкг/см^3 (п. 7.2.1.), разбавляют этилацетатом до метки.

7.2.4. Раствор № 2 транс-метконазола для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 4 см^3 исходного раствора транс-метконазола с концентрацией 250 мкг/см^3 (п. 7.2.2), разбавляют этилацетатом до метки.

Градуировочный раствор № 1 и 2 хранят в морозильной камере при температуре <-15 °С в течение месяца. Эти растворы используют для установления времени удерживания каждого изомера при хроматографировании.

7.2.5. Раствор № 3 цис-метконазола и транс-метконазола для градуировки (концентрация по 25 мкг/см^3 каждого изомера). В мерную колбу вместимостью 50 см^3 помещают по 5 см^3 исходных растворов цис- и транс-метконазола с концентрацией 250 мкг/см^3 (п.п. 7.2.1 и 7.2.2), разбавляют этилацетатом до метки.

Раствор № 3 хранят в морозильной камере при температуре < -15°С в течение 30-ти дней.

7.2.6. Рабочие растворы № 4 – 7 цис-метконазола и транс-метконазола для градуировки и внесения (концентрация по 2.5 - 0.25 мкг/см^3 каждого изомера). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1.0; 2.0; 4.0 и 10.0 см^3 градуировочного раствора № 3 с концентрацией 25 мкг/см^3 (п. 7.2.5.), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 4 - 7 с концентрацией цис- и транс-метконазола по 0.25, 0.5, 1.0 и 2.5 мкг/см^3 каждого изомера, соответственно.

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

7.3. Приготовление растворов внесения

7.3.1. Исходные растворы цис- и транс-метконазола для внесения (концентрация 100 мкг/см^3 каждого изомера). В мерную колбу вме-

стимостью 100 $см^3$ помещают по 0,01г цис- и транс-метконазола, растворяют в 50 - 60 $см^3$ метанола (этилацетата), доводят метанолом (этилацетатом) до метки, тщательно перемешивают.

Растворы хранят в морозильной камере при температуре < -15 °С в течение месяца.

7.3.2. Растворы № 1 и 2 цис-метконазола и транс-метконазола для внесения (концентрация 5 мкг/$см^3$ каждого изомера). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 5 $см^3$ исходного раствора цис- и транс- метконазола с концентрацией 100 мкг/$см^3$ каждого изомера (п.п. 7.3.1), разбавляют метанолом (этилацетатом) до метки.

Растворы № 1 и 2 хранят в морозильной камере при температуре <- 15 °С в течение месяца.

Раствор в метаноле (№ 1) используют для приготовления проб воды, почвы, зерна и соломы зерновых с внесением при оценке полноты извлечения метконазола методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

Раствор в этилацетате (№ 2) используют для приготовления проб семян и масла рапса с внесением при оценке полноты извлечения метконазола методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.4. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика (мВ·сек) от концентраций цис- и транс- изомеров метконазола в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м 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-х параллельных измерений. Устанавливают площади пиков двух изомеров метконазола.

Градуировочные графики проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значения площадей отличаются более, чем на 16% от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.5. Приготовление 7,5 % раствора хлорида натрия

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 40,5 г хлористого натрия, растворяют в 250-300 см^3 деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

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 метконазола на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 метконазола для внесения с концентрацией 5 мкг/см^3 каждого изомера (п. 7.3.6 или 7.3.6), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 0,5 см^3 этилацетата, помещают на ультразвуковую баню на 1 мин, добавляют 5 см^3 гексана, перемешивают и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают 2,0 см^3 смеси гексан-этилацетат, которые также наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 40 см^3 смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), 30 см^{3}смеси гексан - этилацетат (1:1, по объему), элюаты отбрасывают.

Затем колонку промывают 60 см^3 этилацетата и 30 см^3 смеси этилацетат-метанол (3:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек. Фракционно (по 15 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см^3 этилацетата, анализируют содержание метконазола 9.5.

Фракции, содержащие метконазол, объединяют и вновь анализируют.

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

ПРИМЕЧАНИЕ: Проверку хроматографического поведения метконазола 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», зерно - ГОСТ 13586.3-83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р 50436-92 «Зерновые. Отбор проб зерна», солома - ОСТ 27262-87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб» рапс - ГОСТ 10583-76 «Рапс. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», 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, зерна и соломы зерновых, семян 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 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, зерно и солому зерновых, семена рапса 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 75 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 500 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют дважды, используя по 75 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. Затем 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 50 $см^3$ гексана, 20 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (9:1 по объему), элюаты отбрасывают.

Метконазол элюируют с колонки 60 $см^3$ этилацетата и 30 $см^3$ смеси этилацетат-метанол (3:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150-250 $см^3$, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 1,5 $см^3$ этилацетата (исследование воды), 4 $см^3$ этилацетата (исследование почвы), 2 $см^3$ этилацетата (исследование зерна зерновых), 1 $см^3$ этилацетата (исследование соломы зерновых), 3 $см^3$ этилацетата (исследование семян и масла рапса) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.2. Почва, зерно, солома

9.2.1. Экстракция

Образцы почвы, измельченного зерна массой 20 г, соломы массой 5 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, вносят 50 $см^3$ (для соломы - 75 $см^3$) смеси ацетон-гексан (1:1, по объему), помещают на встряхиватель на 1 час. 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 объемом 30 $см^3$ (для соломы 50 $см^3$), 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 $см^3$ этой же смеси.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в делительную воронку на 500 см^3 (для соломы - 1000 см^3) и проводят очистку экстракта по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К экстракту, полученному по п. 9.2.1 и помещенному в делительную воронку, добавляют 120 см^3 (солома - 160 см^3) 7,5 % раствора хлорида натрия и 50 см^3 этилацетата, интенсивно встряхивают в течение 2-3 мин. После разделения фаз верхний 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, используя 50 см^3 этилацетата. Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 35 °С и подвергают дополнительной очистке по п. 9.1.2.

Очищенную пробу перед хроматографированием растворяют при исследовании проб почвы в 4 см^3 этилацетата, зерна – 2 см^3, соломы- 1 см^3 и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.3.Семена рапса

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных семян массой 20 г помещают в коническую колбу вместимостью 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 двойной бумажный фильтр «красная лента». Осадок 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 250 см^3,

добавляют 25 см^3 гексана (насыщенного ацетонитрилом), интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2-х 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. 9.2.1. Очищенную пробу перед хроматографированием растворяют в 3 см^3 этилацетата и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.4. Масло рапса

9.4.1. Экстракция и очистка экстракта в системе несмешивающихся растворителей

Образец масла массой 10 г растворяют в 70 см^3 гексана и помещают в делительную воронку на 500 см^3, вносят 30 см^3 ацетонитрила (насыщенного гексаном) и интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой осторожно декантируют через бумажный фильтр, помещенный в конусную воронку, в коническую колбу вместимостью 150-200 см^3. Экстракцию пробы масла повторяют дважды дополнительными порциями ацетонитрила (насыщенного гексаном) объемом 25 см^3.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в делительную воронку на 250 см^3, добавляют 25 см^3 гексана (насыщенного ацетонитрилом) и подвергают очистке по последовательно п.п. 9.3.2 и 9.1.2. Очищенную пробу перед хроматографированием растворяют в 1,5 см^3 этилацетата и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.5 Условия хроматографирования

Хроматограф газовый «Кристалл-2000М» с термоионным детектором.

Колонка капиллярная ZB-50, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм

Температура детектора: 350 °С

испарителя: 280 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 150 °С, выдержка 1.3 мин, нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 280 °С, выдержка 13.1 мин.

Скорость газа 1 (азот): 22.3 см/сек, давление 80 кПа, поток 0.67 $см^3$/мин.

Газ 2: деление потока 1 : 13.4; сброс 8.9 $см^3$/мин.

Водород: 12,5 $см^3$/мин.

Воздух: 200 $см^3$/мин.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков, с помощью градуировочных графиков определяют концентрацию цис- и транс- изомеров метконазола в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочные растворы цис- транс- метконазола с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, разбавляют этилацетатом, но не более чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание метконазола в пробах воды, почвы, зерна, соломы зерновых, семян и масла рапса (X, мг/$дм^3$, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(C_1 + C_2) \cdot V}{m}, \text{ где}$$

X - содержание метконазола в пробах воды, почвы, зерна, соломы зерновых, семян и масла рапса, мг/$дм^3$ и мг/кг;

C_1 и C_2 – концентрации цис- и транс- метконазола , 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:

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

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

r- значение предела повторяемости (таблица 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:

$(\overline{X} \pm \Delta)$ мг/дм^3 или мг/кг при вероятности P= 0.95,

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

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

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

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

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

*«содержание метконазола в пробе воды менее 0,003 мг/дм^3, почвы, соломы зерновых – менее 0,1 мг/кг, зерна зерновых – 0,05 мг/кг, семян и масла рапса – менее 0,075 мг/кг»**

** - 0,003 мг/дм^3, 0,1 мг/кг, 0,05 мг/кг и 0,075 мг/кг - пределы обнаружения в воде, почве, соломе зерновых, зерне зерновых, семенах и масле рапса, 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 прецизионность) методов и результатов измерений».

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \ge \Delta_{л,\overline{X}} + \Delta_{л,\overline{X}'},$$

где $\pm\ \Delta_{л,\overline{X}}(\pm\Delta_{л,\overline{X'}})$ – 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;

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д,$$

где $\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ 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 К рассчитывают по формуле

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

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

Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (1)$$

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)

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

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

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

gost.e-ecolog.ru