Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств глюфосинат аммония и его метаболита в масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2274—07

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 глюфосинат аммония и его метаболита в масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2274-07

ББК 51.21
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств глюфосинат аммония и его метаболита в масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 18 с.

1. Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии (Л.В. Дубовая, А.М. Макеев).

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

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

4. Введены в действие с 10 декабря 2007 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25.

Тираж 200 экз.

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

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

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

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный Государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г.Г. Онищенко
24 сентября 2007 г.

Дата введения: 10 декабря 2007 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы

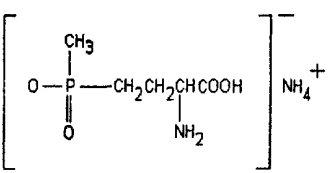
Определение остаточных количеств глюфосинат аммония и его метаболита в масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2274-07

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации глюфосинат аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в масле рапса в диапазоне 0,2 – 2,0 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Глюфосинат аммоний

Название вещества по ИЮПАК: Аммоний DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфинат (I)



$C_5H_{15}N_2O_4P$
Мол. масса: 198,2

Бесцветный кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Температура плавления: 215 ^{0}C. Давление паров при 20^{0}C: <0,1 мПа. Коэффициент распределения н-октанол / вода:

K_{ow} log P < 0,1. Растворимость (г/дм^3) при 20^{0}С: вода-1370, ацетон-0,16, этанол-0,65, этилацетат-0,14, толуол-0,14, гексан - 0,2.

Вещество стабильно при нормальных условиях хранения, не гидролизуется в умеренно кислых и щелочных средах.

Достаточно быстро разрушается в воде и почве: DT_{50} в воде = 2-30 дней, DT_{50} в почве = 3-20 дней.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 1620-2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - 1,26-2,9 мг/м^3 воздуха. Глюфосинат аммоний не вызывает раздражения кожи. LC_{50} для рыб - 710 мг/дм^3 (96 час.).

Глюфосинат аммоний не обладает тератогенным, канцерогенным и мутагенным действием. Он нетоксичен для водорослей, дафний, дождевых червей, пчел, птиц и диких животных.

Гигиенические нормативы для глюфосинат аммония в России:

ДСД – 0,02 мг/кг/сутки;

МДУ в растительных маслах – 0,4 мг/кг.

Область применения

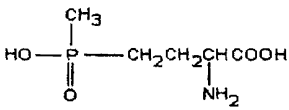
Глюфосинат аммоний (I) - неселективный контактный гербицид с ограниченной системностью, передвигающийся только внутри обработанных листьев. В процессе поступления в растение вещество диссоциирует и в клетках присутствует только глюфосинат свободная кислота (II). Гербицид используется для уничтожения однолетних и многолетних широколистных и злаковых сорняков в парах, посадках плодовых и цитрусовых культур, ягодных кустарниках и виноградниках путем направленного опрыскивания в период активного роста сорных растений, а также на овощных культурах при довсходовом применении препарата. Глюфосинат аммоний применяется также для десикации ботвы картофеля, подсолнечника, клещевины, люцерны и сеникации яровой пшеницы.

Применяется в России в качестве десиканта на посевах гороха, подсолнечника, сои, рапса, люцерны и льна-долгунца при норме расхода от 0,15 до 0,35 кг д.в./га.

Глюфосинат аммоний в воде и растениях подвергается разрушению, в результате чего образуется 3-метилфосфино-пропионовая кислота (III).

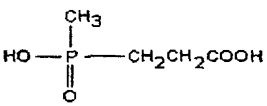
Глюфосинат свободная кислота

Название по ИЮПАК: DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфиновая кислота (II)



$C_5H_{12}NO_4P$
Мол. масса: 181,1

Метаболит глюфосинат аммония
Название по ИЮПАК: 3 - метилфосфино-пропионовая кислота (III)



$C_4H_9O_4P$
Мол. масса: 152,1

1. Метрологические характеристики метода

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

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Определяемое вещество	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, %
Глюфосинат аммоний	от 0,2 до 1,0	25	2,3	6,5	10,1
3-метилфосфино-пропионовая кислота	от 0,2 до 1,0	25	2,8	7,8	12,1

Таблица 2

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

Определяемое вещество	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, %
Масло					
Глюфосинат аммоний	0,2	0,2 - 2,0	87,1	4,5	± 4,2
3-метилфосфинопропионовая кислота	0,2	0,2 - 2,0	87,9	4,2	± 3,9

2. Метод измерения

Методика основана на определении веществ с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) на фосфорсодержащие вещества. Контроль глюфосинат аммония и его метаболита 3-метилфосфинопропионовой кислоты в образцах рапсового масла осуществляется по содержанию веществ после экстракции их из анализируемого образца водой, дериватизации веществ с помощью триметилортоацетата в кислой среде и последующей очистки полученных производных на колонке с силикагелем. В результате дериватизации глюфосинат аммоний превращается в метил-4-(метоксиметил)фосфинил-2-ацетамидобутират (IV), а метаболит - в метил-3-(метоксиметил) фосфинил-пропионат (V).

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается дериватизацией анализируемых веществ, подбором капиллярной колонки и условий программирования ее температуры.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ТИД (СКБ «Хроматэк», Россия)	Номер госреестра № 14516-95
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,036 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-50-2, 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 0.1;1.0; 5,0; 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Глюфосинат аммоний (I), аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,2% (Байер, Германия)

Глюфосинат свободная кислота (II), аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,9% (Байер, Германия)

3-метилфосфино-пропионовая кислота (III), аналитический стандарт с содержанием д.в. 97,9% (Байер, Германия)

Метил-4-(метоксиметил)фосфино-2-ацетамидобутират (IV), аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,9% (Байер, Германия)

Метил-3-(метоксиметил)фосфино-пропионат (V), аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,8% (Байер, Германия)

Аммиак водный (28-30% NH_3), чда	ГОСТ 3760
Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513-86
Вода деионизованная	ГОСТ 7602
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61-75
Метилацетат, ч	ТУ 6-09-09-300-87
Натрия сульфат, безводный, хч	ГОСТ 4166
Спирт метиловый, хч	ГОСТ 6995
Толуол, хч	ГОСТ 5789

Триметилортоацетат (98%) /Мерк, Германия/

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), осч ГОСТ 9293
Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с ТУ 64-1-2851-78
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США) или аналогичная
Вата медицинская ТУ 9393-001-00302238
Воронки делительные вместимостью 250 см^3 ГОСТ 10054-75
Воронки конусные диаметром 30-37 см ГОСТ 25336
Генератор водорода, модель SPE, фирма General Electric (США) или аналогичный
Дефлегматор елочный ГОСТ 9737
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см^3 ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100, 250 см^3 ГОСТ 9737
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8-10 мм
Компрессор (СКБ "Хроматэк", Россия) № 3456
Плитка электрическая
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ТУ 25-11-917-74
ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)
Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии I степени активности (Мерк, Германия)
Стаканы химические вместимостью 100, 500 см^3 ГОСТ 25336
Стекловата
Холодильник водяной обратный ГОСТ 9737
Шприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 10 мм^3 (Hamilton, США)
Шприц для отбора проб вместимостью 100 мм^3 (Hamilton, США)

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

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

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 $(20+5)^0$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, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка н-гексана

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

7.1.2. Очистка метилацетата

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

7.1.3. Очистка силикагеля

Силикагель встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130^{0}С в течение 5 часов.

7.2. Приготовление 0,015 М раствора водного аммиака

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 10 см^3 водного аммиака (содержит 28-30% NH_3), добавляют 500 см^3 деионизованной воды, перемешивают и доводят водой до метки.

7.3. Подготовка колонки с силикагелем

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 10-12 мм помещают тампон из стекловаты и в колонку (при открытом кране) медленно выливают суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 10 см^3 метилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 10 см^3 метилацетата со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

7.4. Проверка хроматографического поведения глюфосинат аммония и его метаболита на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают по 0,5 см^3 градуировочного раствора № 1 дериватов глюфосинат аммония и метаболита с концентрацией 10 мкг/см^3 в метилацетате (п. 7.6.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см^3 метилацетата. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.3. Промывают колонку 30 см^3 смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 60 см^3 смеси метилацетат-метанол (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в секунду. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^{0}С до объема 0,5-1 см^3. Раствор переносят в градуированную пробирку вместимостью 5 см^3, колбу промывают 1 см^3 метилацетата, который также переносят в пробирку. Доводят метилацетатом объем в пробирке до 3 см^3 и анализируют на содержание дериватов по п. 9.4.

ПРИМЕЧАНИЕ. При использовании новой партии сорбента или растворителей проводится проверка хроматографического поведения дериватов глюфосинат аммония и его метаболита.

7.5. Подготовка и кондиционирование

Капиллярную кварцевую колонку ZB-50 (типа OV-17) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 270°С и скорости газа-носителя 2 см^3/мин в течение 8-10 часов.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходные растворы дериватов глюфосинат аммония и его метаболита (3-метилфосфино-пропионовая кислота) для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 13,9 мг метил-4-(метоксиметил) фосфинил-2-ацетамидобутирата (IV, дериват глюфосинат аммония) или 10 мг метил-3-(метоксиметил)фосфинил-пропионата (V, дериват метаболита), растворяют в 40-50 см^3 метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают.

Растворы хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.6.2. Раствор смеси дериватов глюфосинат аммония и его метаболита № 1 для градуировки (концентрация каждого вещества 10 мкг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят по 10 см^3 исходных растворов дериватов глюфосинат аммония и метаболита с концентрацией 10 мг/см^3 (п.7.6.1.), разбавляют метилацетатом до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.6.3. Рабочие растворы №№ 2-5 смеси дериватов глюфосинат аммония и его метаболита для градуировки (концентрация каждого вещества 0,1 – 1,0 мкг/см^3 в пересчете *на эквивалент глюфосинат свободная кислота).* В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 градуировочного раствора № 1 смеси дериватов глюфосинат аммония и метаболита с концентрацией 10 мкг/см^3 (п.7.6.2.), доводят до метки метилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией глюфосинат аммония и метаболита 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/см^3.

Растворы хранят в холодильнике в течение месяца.

7.7. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ*сек) от концентрации глюфосинат аммония или

его метаболита в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 рабочим растворам дериватов веществ для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого рабочего градуировочного раствора (п. 7.6.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

7.8. Приготовление растворов для фортификации

Отвешивают 50,45 мг глюфосинат аммония в мерную колбу вместимостью 50 см^3, добавляют 30-35 см^3 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объем этим же растворителем до метки. Концентрация глюфосинат аммония в растворе (А) составляет 1 мг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота. Раствор А хранят в холодильнике не более месяца.

Отвешивают 42 мг 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в мерную колбу вместимостью 50 см^3, добавляют 30-35 см^3 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объем этим же растворителем до метки. Концентрация метаболита в растворе (В) составляет 1 мг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота. Раствор В хранят в холодильнике не более месяца.

Переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3 по 0,5 см^3 растворов А и В и доливают ацетоном до метки, перемешивают. Концентрация глюфосинат аммония и его метаболита в растворе (С) составляет 10 мкг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота. Раствор хранят в холодильнике не более месяца.

Раствор С используют для приготовления проб рапсового масла с внесением при оценке полноты извлечения глюфосинат аммония и его метаболита из исследуемых образцов.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (N 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и ГОСТом 8988-77 «Масло рапсовое. ТУ». Пробы

рапсового масла хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0-4^{0}С.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция глюфосинат аммония и метаболита

Навеску (5 г) масла помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, приливают 20 см^3 гексана, перемешивают и добавляют 80 см^3 деионизованной воды. Эмульсию перемешивают в течение 30 минут на аппарате для встряхивания и затем переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Колбу ополаскивают 10 см^3 деионизованной воды, которые переносят в делительную воронку. После разделения фаз пропускают нижний водный слой через стеклянный фильтр с тампоном из хлопковой ваты в чистую делительную воронку вместимостью 250 см^3. К водной фазе приливают 20 см^3 гексана и эмульсию встряхивают в течение 2 минут. После разделения фаз водный слой фильтруют через бумажный фильтр в мерный цилиндр. Измеряют объем раствора, отбирают ½ объема этой фракции (эквивалентна 2,5 г образца) в грушевидную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^{0}С. Дальнейшую дериватизацию и очистку проводят по пп. 9.2. и 9.3.

9.2. Дериватизация

К сухому остатку (из п. 9.1.) приливают 3 см^3 ледяной уксусной кислоты, перемешивают и колбу помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Затем в колбу добавляют 12 см^3 триметилортоацетата и несколько стеклянных кипелок и снова помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 4,5 часов на электроплитке. К охлажденной реакционной смеси трижды добавляют по 15 см^3 толуола и каждый раз упаривают содержимое на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^{0}С до объема 1-2 см^3. Дальнейшую очистку дериватов проводят по п. 9.3.

ПРИМЕЧАНИЕ: При проведении дериватизации посуда и реактивы должны быть сухими.

9.3. Очистка на колонке с силикагелем

К раствору дериватов глюфосинат аммония и метаболита в круглодонной колбе, полученного по п.9.2., добавляют 2 см^3 смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему) и раствор переносят на ко-

лонку с силикагелем, подготовленную по п.7.3. Колбу обмывают дважды порциями по 2 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 30 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Дериваты метаболита и глюфосинат аммония элюируют с колонки 50 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (8:2, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Элюат упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^0С до объема 0,5-1 $см^3$. Раствор переносят в градуированную пробирку вместимостью 5 $см^3$, колбу обмывают дважды порциями по 1,5 $см^3$ метилацетата, которые также переносят в пробирку. Доводят метилацетатом объем в пробирке до 5 $см^3$ и анализируют на содержание дериватов глюфосинат аммония и метаболита по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф "Кристалл 2000М" с термоионным детектором на фосфорсодержащие вещества с пределом детектирования (по фосфору в метафосе) не выше $2,82x10^{-14}$ г/куб. см

Колонка капиллярная, кварцевая ZB-50 (типа OV-17), длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США).

Температура детектора - 300 ^{0}С, испарителя - 240 ^{0}С, колонки (программа: 150^0С – 2 мин.; 5^0/мин до 180^0С – 0 мин.; 12^0/мин до 250^0С – 4 мин.; 20^0/мин до 270^0С 4 мин.).

Расход газов: газа-носителя (азот) – 2,7 $см^3$/мин; поддув детектора – 25 $см^3$/мин; водорода и воздуха в ТИД – 11,2 и 200 $см^3$/мин, соответственно.

Деление потока: 1:2.

Объем вводимой пробы - 1 $мм^3$.

Время удерживания метил-3-(метоксиметил)фосфинил пропионата: 7 мин. 15 сек.

Время удерживания метил-4-(метоксиметил)фосфинил-2 ацетамидобутирата: 16 мин.05 сек.

Линейный диапазон детектирования – 0,1-1 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют метилацетатом.

10. Обработка результатов анализа

Содержание глюфосинат аммония (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание глюфосинат аммония в пробе, мг/кг;

H_1 - площадь пика образца, мВ*с;

H_0 - площадь пика стандарта, мВ*с;

A - концентрация стандартного раствора деривата глюфосинат аммония (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота), мкг/см^3;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m - масса анализируемой части образца, г (для масла – 2,5 г)

Содержание 3-метилфосфино-пропионовой кислоты (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в пробе, мг/кг;

H_1 - площадь пика образца, мВ*с;

H_0 - площадь пика стандарта, мВ*с;

A - концентрация стандартного раствора деривата метаболита (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота), мкг/см^3;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m - масса анализируемого части образца, г (для масла – 2, 5 г)

Результаты определения глюфосинат аммония и 3 метилфосфино-пропионовой кислоты суммируют и сравнивают с утвержденным значением МДУ для матрицы.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/кг;

r- значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

В случае, если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения» менее 0.2 мг/кг *

* - 0.2 мг/кг - предел обнаружения глюфосинат аммония и метаболита.

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 с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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/кг, при этом:

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$,

где Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

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

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/кг;

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

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)

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

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

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

14. Разработчики

Дубовая Л.В., научн. сотр.; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук.

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

gost.e-ecolog.ru