Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств мефеноксама в зерне и соломе зерновых колосовых культур, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2335—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 мефеноксама в зерне и соломе зерновых колосовых культур, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2335-08

ББК 51.21
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств мефеноксама в зерне и соломе зерновых колосовых культур, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 18 с.

1. Разработаны: ГНУ 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 населения (протокол от 6 декабря 2007 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 15 февраля 2008 г.

4. Введены в действие с 10 апреля 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
15 февраля 2008 г.
Дата введения: 10 апреля 2008 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы

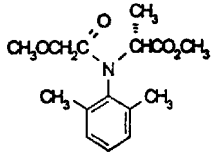
Определение остаточных количеств мефеноксама в зерне и соломе зерновых колосовых культур, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2335-08

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации мефеноксама в зерне колосовых культур, семенах и масле рапса в диапазоне 0,05-0,5 мг/кг, в соломе зерновых культур в диапазоне 0,1-1 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Мефеноксам

Название вещества по ИЮПАК: Метил N-(метоксиацетил)-N-(2,6-ксилил)-D--аланинат



$C_{15}H_{21}NO_4$
Мол. масса: 279,3

(R) - энантиомер металаксила. Вязкая жидкость от бледно-желтого до светло-коричневого цвета. Температура плавления -38,7°С. Температура кипения: разлагается при 270°С. Давление паров при 25°С:

3,3 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 1,71. Растворимость (г/дм^3) при 25°С: вода – 26, н-гексан – 59, смешивается с ацетоном, этилацетатом, метанолом, дихлорметаном, толуолом и н-октанолом.

Вещество устойчиво к фотолизу и гидролизу в кислых и нейтральных условиях (DT_{50}> 200 дней). В щелочных условиях (pH 9) DT_{50}=116 дней.

В биологически активных почвах в аэробных условиях мефеноксам разлагается со средним значением DT_{50}=21 день.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 667 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - >2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - > 2290 мг/м^3 воздуха. LC_{50} для рыб - >100 мг/дм^3 (96 час.). Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел и дождевых червей.

Рекомендуемый гигиенический норматив для мефеноксама в зерне хлебных злаков, семенах и масле рапса – 0,1 мг/кг.

Область применения

Мефеноксам – системный фунгицид защитного и искореняющего действия из класса фениламидов. Ингибирует образование белков в грибах, подавляя синтез рибосомальной РНК. Высокоэффективен против возбудителей фитофтороза картофеля и томатов, мильдью винограда, ложной мучнистой росы и корнееда овощных культур, сахарной свеклы и подсолнечника, увядания растений кукурузы.

Применяется в России в качестве протравителя семян сахарной свеклы и подсолнечника с нормой расхода 0,17-1,0 кг д.в./т. Помимо этого, мефеноксам в составе смесевых препаратов с фунгицидами защитного действия используется для двух-трехкратной обработки посевов овощных культур, картофеля и винограда в течение вегетационного периода с нормой расхода 0,1-0,2 кг д.в./га.

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, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций (n=20) приведены в таблице 2.

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, %
Зерно	от 0,05 до 0,1 вкл.	**50**	**2,7**	**7,6**	**11,7**
	более 0,1 до 0,5	**25**	**2,4**	**6,7**	**10,4**
Солома	0,1	50	2,1	5,9	9,1
	более 0,1 до 1,0	**25**	**1,8**	**5,0**	**7,8**
Семена рапса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	**2,5**	**7,0**	10,8
	более 0,1 до 0,5	25	**2,3**	**6,5**	10,0
Масло рапса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	**3,2**	**9,0**	**13,9**
	более 0,1 до 0,5	25	**2,3**	**6,5**	10,0

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, ± %
Зерно	**0,05**	**0,05-0,5**	84,7	**3,9**	±3,7
Солома	**0,1**	**0,1-1,0**	**83,8**	**3,1**	±2,9
Семена рапса	**0,05**	0,05-0,5	84,0	**3,1**	±2,9
Масло рапса	0,05	0,05-0,5	85,0	**4,0**	±3,7

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД). Контроль мефеноксама в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из зерна и соломы ацетоном, а из семян и масла рапса ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с оксидом алюминия и концентрирующем патроне Диапакдиол.

Идентификация проводится по времени удерживания пика вещества, количественное определение - методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается путем подбора капиллярной колонки и условий программирования температуры колонки.

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 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 $см^3$	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

Мефеноксам, аналитический стандарт фирмы Сингента (Швейцария) с содержанием д.в. 99,1%

Ацетон, чда	ГОСТ 2603-79
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 7602
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрия хлорид, хч	ГОСТ 4233
Хлористый метилен (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300
Эфир диэтиловый медицинский	ГОСТ 6265

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 проб АВУ-1	ТУ 64-1-1081-73
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Вата медицинская	ТУ 9393-001-00302238
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 см^3	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена	ГОСТ 5614
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см^3	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25, 50,100 см^3	ГОСТ 9737
Колонка кварцевая капиллярная ZB-1 (типа SE-30), длиной 20 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США) или аналогичная	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8-10 мм	ГОСТ 9737

Мельница лабораторная электрическая ТУ 46-22-236-84

Насос водоструйный вакуумный ГОСТ 10696

Оксид алюминия для колоночной хроматографии, кислый (Сигма, США) I степени активности

Патроны концентрирующие Диапак-диол (0,6 г) ТУ 4215-001-05451931-94 (ЗАО "БиоХимМак СТ", Москва)

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ТУ 25-11-917 ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)

Стаканы химические вместимостью 50 и 500 $см^3$ ГОСТ 25336

Стекловата

Установка для перегонки растворителей

Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные ТУ 6-09-2678-77 или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ

Центрифуга Т-23 (Janetzki, Германия) или аналогичная

Шприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1 - 10 $мм^3$ (Hamilton, США)

Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 10 $см^3$ ГОСТ 22090

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 оксидом алюминия и концентрирующих патронов Диапак-диол.

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 этилацетата

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

7.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

7.1.4. Очистка диэтилового эфира

Растворитель предварительно встряхивают со свежеприготовленным раствором железного купороса, а затем последовательно промывают 0,5%-ным раствором перманганата калия, 5%-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

7.2. Подготовка колонки с оксидом алюминия и концентрирующего патрона Диапак-диол для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 10 г оксида алюминия V степени активности в 15 $см^3$ гексана (оксид алюминия V степени активности по Брокману получают добавлением 15% воды к оксиду алюминия I степени активности). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 $см^3$ гексана со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак-диол промывают последовательно с помощью медицинского шприца 12 $см^3$ этилацетата и 8 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 5 $см^3$/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения мефеноксама на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,2 $см^3$ градуировочного раствора № 1 мефеноксама с концентрацией 10,0 мкг/$см^3$ в этилацетате (п. 7.5.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 20 $см^3$ смеси гексан-диэтиловый эфир (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку с силикагелем промывают 30 $см^3$ смеси гексан-диэтиловый эфир (1:1, по объему). Фракционно (по 5 $см^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание мефеноксама по п.9.5. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту вымывания вещества из колонки и необходимый объем элюирующего агента.

7.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку ZB-1 (типа SE-30) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280^{0}С и скорости газа-носителя 2 см^3/мин в течение 8-10 часов.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходный раствор мефеноксама для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,010 г мефеноксама, растворяют в 40 см^3 этилацетата, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение 3-х месяцев.

7.5.2. Раствор мефеноксама №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3).

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10,0 см^3 исходного раствора мефеноксама с концентрацией 100 мкг/см^3 (п.7.5.1.), разбавляют этилацетатом до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб зерна, соломы, семян и масла с внесением при оценке полноты извлечения мефеноксама из исследуемых образцов используют ацетоновый раствор мефеноксама с концентрацией 5 мкг/см^3.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор мефеноксама хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение месяца.

7.5.3. Рабочие растворы №№ 2-5 мефеноксама для градуировки (концентрация 0,25-2,5 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 2.5, 5.0, 12.5 и 25.0 см^3 градуировочного раствора № 1 мефеноксама с концентрацией 10,0 мкг/см^3 (п.7.5.2), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией мефеноксама 0.25, 0.5, 1.25 и 2.5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ*с) от концентрации мефеноксама в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п.7.5.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

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» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом Р 50436-92 «Зерновые. Отбор проб зерна», ГОСТом 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и ГОСТом 8988-77 «Масло рапсовое. ТУ».

Пробы зерна, семян и соломы подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы масла рапса хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0-4^{0}С. В некоторых случаях масло получают из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция и очистка

9.1.1. Зерно, солома. Образец размолотого зерна (10 г) или соломы (5 г) помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 20 см^3 дистиллированной воды и спустя 5 минут 60 см^3 ацетона. Суспензию перемешивают в течение 45 минут на аппарате для встряхивания и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 40 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость объединяют и переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по пп. 9.2., 9.3 и 9.4.

9.1.2. Семена. Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 70 см^3 ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания на 1 час. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 30 см^3 ацетонитрила. Объединенный ацетонитрильный экстракт переносят в круглодонную колбу, куда добавляют 30 см^3 деионизованной воды. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2., 9.3. и 9.4.

9.1.3. Масло. Образец масла массой 5 г переносят в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 ацетонитрила и колбу помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в химический стакан, а к оставшемуся в колбе маслу приливают 30 см^3 ацетонитрила и операцию экстракции повторяют. Объединенную ацетонитрильную фазу переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют 10 мин. при 10000g. Декантируют ацетонитрильный слой в круглодонную колбу через слой ваты, помещенной в конусную воронку. После декантации вату промывают 10 см^3 ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. Объединенную ацетонитрильную фазу упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^{0}С и остаток дополнительно очищают по пп. 9.3. и 9.4.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракты, полученные по пп. 9.1.1. и 9.1.2. и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка при температуре не выше 40^{0}С. К водному остатку прибавляют 15 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 30 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой сливают в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 20 см^3 хлористого метилена. Объединенную дихлорметановую фракцию переносят в делительную воронку, приливают 50 см^3 0,1 N раствора NaOH и смесь интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу и упаривают досуха на ротаци-

онном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3. и 9.4.

9.3. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Сухой остаток экстрактов зерна, соломы и семян в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2., растворяют в 3 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 2 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 15 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Мефеноксам элюируют с колонки 25 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (1:1, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С.

Остаток экстракта масла в круглодонной колбе, полученный по п. 9.1.3., растворяют в 2 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 1 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 10 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Мефеноксам элюируют с колонки 12 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (8:2, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 50 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С.

9.4. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак-диол

Остаток экстракта зерна, семян, соломы или масла в круглодонной колбе, полученный по п.9.3., растворяют при помощи ультразвуковой ванны в 2 см^3 смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) и переносят в подготовленный концентрирующий патрон Диапак-диол (п. 7.2.). Патрон промывают 0,5 см^3 смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), элюат отбрасывают. Мефеноксам элюируют 3,5 см^3 смеси гексан-этилацетат (7:3, по объему) в круглодонную колбу вместимостью 25 см^3. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40^{0}С. Остаток экстрактов зерна, семян и соломы в колбе раство-

ряют в 2 $см^3$, а масла – в 1 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание мефеноксама по п.9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с термоионным детектором на азотсодержащие вещества с пределом детектирования не выше $2,82x10^{-14}$ г/$см^3$.

Колонка капиллярная кварцевая ZB-1(типа SE-30), длина 18 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США)

Температура термостата испарителя – 260^0С, детектора – 300^0С, термостата колонки (программа: от 140^0С (1 мин.) со скоростью 20^0/мин до 190^0С (0 мин.); со скоростью 5^0/мин до 230^0С (0 мин.); со скоростью 20^0/мин до 260^0С (5 мин.)

Расход газов: газа-носителя (азот) – 3,0 $см^3$/мин; водорода и воздуха к ТИД – 12,3 и 200 $см^3$/мин., соответственно

Деление потока: 1:0,9

Время удерживания мефеноксама: 5 мин.12 сек – 5 мин. 15 сек

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,25 – 2,5 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят 3 раза и вычисляют среднюю площадь хроматографического пика мефеноксама.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$, разбавляют этилацетатом.

10. Обработка результатов анализа

Содержание мефеноксама рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание мефеноксама в пробе, мг/кг;

H_1 – площадь пика образца, мВ*с;

H_o – площадь пика стандарта, мВ*с;

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

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

m - масса анализируемого образца (г)

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 (дм^3);

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:

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

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

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

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

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 0,05 мг/кг для зерна, семян и масла**

*менее 0,1 мг/кг для соломы***.

**- 0,05 мг/кг - предел обнаружения для зерна колосовых культур, семян и масла рапса.*

***-0,1 мг/кг – предел обнаружения для соломы.

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 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 (дм^3), при этом:

$\Delta_л = \pm 0{,}84\,\Delta$,

где Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм^3);

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

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 (дм^3);

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 (дм^3);

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

14. Разработчики

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

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

gost.e-ecolog.ru