Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств дикамбы в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3455—17

Издание официальное

Москва • 2017

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 дикамбы в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3455—17

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств дикамбы в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1591—3

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Н. Е. Федорова, О. Е. Егорченкова, Д. Н. Соболев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 декабря 2016 г. № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 16 марта 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1591—3

© Роспотребнадзор, 2017

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств дикамбы в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3455—17

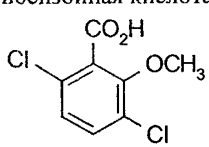
Свидетельство об аттестации № РОСС RU.0001.310430/0272.27.07.16.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для измерения концентраций дикамбы в семенах и масле сои в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Дикамба

3,6-дихлор-2-метоксибензойная кислота



$C_8H_6Cl_2O_3$

Молекулярная масса: 221,0.

Бесцветное кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления: 114—116 °С. Разрушается при нагревании более 200 °С. Давление паров: 1,67 МПа (25 °С). Плотность: 1,488 (25 °С). Коэффициент распределения октанол/вода: K_{ow}logP = –0,55 (pH); –1,88 (pH 6,8); –1,9 (pH 8,9). Растворимость в воде: 6,1 г/дм^3 (25 °С). Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 25 °С): этанол – 922, циклогексанон – 916, ацетон – 810, дихлорметан – 260, диоксан – 1 180, толуол – 130, ксилол – 78. Соли щелочных металлов и диметиламинная соль хорошо

растворимы в воде. При нормальных условиях вещество стабильно к окислению и гидролизу, устойчиво в кислой и щелочной средах. Константа кислотности pKa – 1,97.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1 707 мг/кг, для мышей – 11 300 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс > 9,6 мг/дм^3 воздуха (4 часа).

Область применения препарата. Дикамба – гербицид, применяемый для борьбы с многолетними корнеотпрысковыми сорными растениями типа горчака розового в период вегетации на землях несельскохозяйственного использования; на сенокосных угодьях против черемицы, лютиков, борщевика, щавеля, калужницы и др. Используется также для борьбы с устойчивыми к 2,4-Д и 2М-4Х сорными растениями в пшенице, ржи, ячмене, овсе как добавка к этим гербицидам в фазу кущения культуры.

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, %, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, %
Семена сои	от 0,01 до 0, 1 вкл.	50	3,9	5,5	11	15
Масло сои	от 0.01 до 0,1 вкл.	50	4,5	6,3	13	18

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

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	нижний предел количественного определения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Семена сои	0,01	0,01—0,1	94,3	3,9	2,5
Масло сои	0,01	0,01—0,1	91,0	4,5	2,4

2. Метод измерений

Метод основан на определении дикамбы с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с масс-селективным (МСД) детектором после извлечения вещества из анализируемых образцов ацетонитрилом и очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Газохроматографическому измерению предшествует стадия дериватизации вещества в метиловый эфир.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст. и с пределом допустимой погрешности (1 ± 2,5) мм рт. ст.

Весы аналитические с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности 0,001 г ГОСТ Р 53228—08

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г ГОСТ Р 53228—08

Газовый хроматограф, снабженный масс-селективным детектором и автоматическим

пробоотборником, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	
Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Микрошприц вместимостью 10 $мм^3$	
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 100, 200 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Дикамба, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 98,6 %	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Гелий газообразный вч, в баллонах	ТУ 0271-001-45905715—02
н-Гексан (гексан), для хроматографии	ТУ 6-09-06-657—84
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий марганцовокислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Калия гидроокись (гидроксид калия), гранулированный, хч	ГОСТ 24363—80
Кислота хлороводородная (соляная), концентрированная, хч	ГОСТ 3118—77
Кислота серная, концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Метиламин гидрохлорид, ч	ТУ 6-09-3755—74
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—84
Мочевина, чда	ГОСТ 6691—77
Натрий сернокислый (сульфат) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий азотистокислый (нитрит натрия), хч	ГОСТ 4197—74

Натрий хлористый (хлорид натрия), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
Пропанол-1 (н-пропанол), хч	ТУ 6-09-4344—77
трет-Бутилметиловый эфир, хч	ТУ 6-09-3531—84
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора), хч	ГОСТ 22300—76
Эфир диэтиловый (этиловый эфир), чда	ТУ 2600-001-43852015—02

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующей дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	ТУ 2504-1799—75
Баня водяная	
Бумага индикаторная универсальная pH 1-10	ТУ 6-09-1181—89
Бумажные фильтры средней и высокой плотности	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 250, 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Гомогенизатор бытовой	
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные конические вместимостью 100, 250, 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 50, 150, 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Лед	
Мешалка магнитная	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	ГОСТ 25336—82
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающий вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком вместимостью 100, 150, 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник водяной обратный	

Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5% фенил- и 95 % диметилполисилоксана, толщина пленки сорбента 0,25 мкм

Примечание. Допускается использование вспомогательных устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см^2), необходимо соблюдать Федеральные нормы и правила в области промышленной безопасности «Правила промышленной безопасности опасных производственных объектов, на которых используется оборудование, работающее под избыточным давлением» (утв. Приказом Ростехнадзора от 25.03.2014 № 116). Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

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

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

– процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С 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 градуировочных растворов, раствора внесения, получение N-нитрозо-N-метилмочевины (при необходимости) и раствора диазометана, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции и очистки экстрактов.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 $дм^3$ ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 $дм^3$ ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.1.3. н-Гексан, хлористый метилен

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Приготовление раствора гидроксида калия с массовой долей 10 % (10%-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (10 ± 0,1) г гидроксида калия, растворяют в 25—30 $см^3$ дистиллированной воды, доводят водой до метки.

7.3. Приготовление раствора гидроксида калия с массовой долей 40 % (40%-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ помещают (20 ± 0,1) г гидроксида калия, растворяют в 25—30 $см^3$ дистиллированной воды, доводят водой до метки.

7.4. Получение N-нитрозо-N-метилмочевины

В отсутствии коммерческого препарата нитрозометилмочевины осуществляют его синтез.

Все работы необходимо проводить в вытяжном шкафу!

В круглодонную колбу на шлифе вместимостью 1 $дм^3$, снабженную обратным холодильником, помещают 80 г метиламина гидрохлорида и 300 г мочевины, растворяют содержимое в 400 $см^3$ воды и кипятят 3 ч с обратным холодильником на водяной бане. Раствор в колбе охлаждают до комнатной температуры и добавляют в него 110 г нитрита натрия, охлаждают в бане со льдом, содержащим хлорид натрия, до 0 °С и медленно при перемешивании вливают в смесь 600 г льда и 60 $см^3$ концентрированной серной кислоты, помещенную в стакан вместимостью 2 $дм^3$, охлаждаемый снаружи смесью льда с хлоридом натрия. Выпавшие кристаллы нитрозометилмочевины немедленно отфильтровывают на воронке Бюхнера, хорошо отсасывают под вакуумом и промывают на фильтре ледяной водой.

Внимание! Нитрозометилмочевину хранят в темной склянке в холодильнике, так как под действием света и тепла она может взорваться.

7.5. Получение раствора диазометана

Диазометан взрывоопасен и очень ядовит. Все работы необходимо проводить в вытяжном шкафу!

В коническую колбу на 100 $см^3$ вносят 20 $см^3$ 40%-го раствора гидроксида калия и 50 $см^3$ диэтилового эфира, колбу помещают в баню со льдом и охлаждают до температуры 2—5 °С. В охлажденную смесь порциями при перемешивании на магнитной мешалке или путем встряхивания вносят 5 г нитрозометилмочевины. Реакционную смесь выдерживают на холоду 10 минут. Затем эфирный слой сливают в чистую коническую колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют 10—15 гранул гидроксида калия и колбу оставляют в бане со льдом на 2,5—3 часа для осушения раствора.

Раствор диазометана в эфире годен к употреблению при хранении в холодильнике в течение 1—2 суток. При хранении сосуды с диазометаном нельзя плотно закрывать!

7.6. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.6.1. Исходный раствор дикамбы для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,01 г дикамбы, растворяют в 50—60 $см^3$ ацетона, доводят ацетоном до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре –18 °С в течение 6 месяцев.

7.6.2. Исходный раствор метилового эфира дикамбы для градуировки (концентрация 1,0 мкг/см^3). В круглодонную колбу вместимостью 50 см^3 помещают 1,0 см^3 исходного раствора вещества с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.2.1), растворитель отдувают потоком теплого воздуха, вносят 3 см^3 раствора диазометана, выдерживают 30 минут при комнатной температуре. Для освобождения от избытка диазометана вносят в колбу 0,1 г силикагеля, выдерживают еще 15 мин. Затем добавляют в колбу 0,1 см^3 н-пропанола, отдувают растворитель потоком теплого воздуха (не помещая колбу на подогретую водяную баню) до влажного остатка. Вносят в колбу 1 см^3 гексана и вновь отдувают растворитель до влажного остатка (отсутствие запаха эфира).

Остаток растворяют в гексане, перенося порциями растворителя по 10—15 см^3 в мерную колбу на 100 см^3, доводят объем до метки, перемешивают.

Раствор метилового эфира дикамбы с концентрацией 1 мкг/см^3 хранят в морозильной камере при температуре –18 °С в течение месяца.

Растворы № 2—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходных растворов.

7.6.3. Рабочие растворы № 2—5 метилового эфира дикамбы для градуировки (концентрация 0,01—0,1 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0; 2,0, 5,0 и 10,0 см^3 исходного раствора метилового эфира дикамбы (приготовленного по п. 7.6.2), доводят до метки гексаном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией метилового эфира дикамбы 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранят в морозильной камере при температуре –18 °С в течение 14 дней.

7.6.4. Раствор дикамбы для внесения (концентрация 1 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1,0 см^3 исходного раствора, приготовленного по п. 7.6.1, разбавляют ацетоном до метки.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре –18 °С в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения веществ методом «внесено-найдено», а также контроле точности измерений методом добавок.

7.7. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика от концентрации дикамбы в растворе, 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. 9.4. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений. Устанавливают площади пика дикамбы, на основании которых строят градуировочную зависимость. Градуировочный график проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значения площадей отличаются более, чем на 10 % от параметров градуировочной характеристики, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.8. Приготовление 5%-го водного раствора серной кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 50—60 см^3 воды, осторожно вносят 5 см^3 концентрированной серной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают. Бутилирующую смесь хранят под тягой в течение месяца.

7.9. Приготовление подкисленного ацетонитрила для экстракции

В коническую колбу вместимостью 500 см^3 помещают ацетонитрил и пипеткой добавляют концентрированную соляную кислоту до pH $\approx$ 1, тщательно перемешивают. Все работы необходимо проводить в вытяжном шкафу!

7.10. Приготовление смеси гексан–трет-бутилметиловый эфир для очистки экстрактов

Смесь гексан–трет-бутилметиловый эфир (объемное соотношение 1 : 1). В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 гексана и 500 см^3 трет-бутилметилового эфира, перемешивают.

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

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб»; ГОСТ 17109—88 «Соя. Требования при заготовках и

поставках»; ГОСТ Р 53510—09 «Масло соевое. Технические условия»; ГОСТ Р 52062—03 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб»; «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79).

Семена подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в тканевых мешочках в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре не более 6 месяцев. Пробы масла (помещенные в стеклянные флаконы) хранят в холодильнике в течение 3 месяцев. Для длительного хранения измельченные пробы зерна (аналитические образцы массой 20 г) замораживают и хранят при температуре –18 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Семена сои

Образец измельченных семян сои массой 10 г, помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 подкисленного ацетонитрила, приготовленного по п. 7.9, интенсивно встряхивают (или гомогенизируют) в течение 1 мин, затем помещают на аппарат для встряхивания на 45 минут. Пробе дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют дважды, используя 20 см^3 подкисленного ацетонитрила, выдерживая каждый раз по 2 мин на ультразвуковой бане и 30 мин на аппарате для встряхивания. Осадок на фильтре промывают 10 см^3 подкисленного ацетонитрила.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерный цилиндр на 100 см^3, доводят объем до 100 см^3 подкисленным ацетонитрилом, перемешивают. Аликвоту ($^1/_5$ часть экстракта) помещают в колбу для упаривания на 150 см^3, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С досуха и подвергают очистке перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2.

9.1.2. Масло сои

В коническую колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 г масла и растворяют в 50 см^3 гексана (насыщенного ацетонитрилом). Полученный гексановый раствор переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Колбу промывают 50 см^3 ацетонитрила (насыщенного

гексаном) и также переносят в воронку. Содержимое воронки встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний (ацетонитрильный) слой собирают в плоскодонную колбу объемом 250 $см^3$. Экстракцию повторяют, используя 25 $см^3$ ацетонитрила (насыщенного гексаном), и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, нижний ацетонитрильный экстракт объединяют с предыдущим, аликвоту ($^1/_5$ часть экстракта) помещают в колбу для упаривания на 150 $см^3$, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С досуха и подвергают очистке перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.1 и 9.1.2, растворяют в 10 $см^3$ ацетона, добавляют 200 $см^3$ дистиллированной воды, 2,0 $см^3$ 5%-го водного раствора серной кислоты, перемешивают и помещают в холодильник (4—6 °С) на 2 часа. После этого содержимое колбы фильтруют через двойной бумажный фильтр средней плотности в делительную воронку вместимостью 500 $см^3$. В воронку добавляют 10%-й водный раствор гидроокиси калия до pH 9—10, 10 $см^3$ насыщенного водного раствора хлористого натрия и после перемешивания – 75 $см^3$ дихлорметана. Содержимое воронки интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой сливают и отбрасывают. Очистку экстракта повторяют 50 $см^3$ дихлорметана, встряхивая в течение 2 мин. Далее в воронку добавляют 40 $см^3$ насыщенного водного раствора хлористого натрия и после перемешивания – 75 $см^3$ гексана. Содержимое воронки интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После 5-минутного отстаивания нижний ацетоно-водный слой переносят в химический стакан вместимостью 500 $см^3$, а верхний гексановый слой сливают и отбрасывают.

Водную фазу подкисляют концентрированной серной кислотой до pH 2,0, контролируя его значения по индикаторной бумаге (осторожно, вспенивание!), переносят в новую делительную воронку вместимостью 500 $см^3$, добавляют 70 $см^3$ смеси гексан–трет-бутилметиловый эфир (1 : 1), встряхивают в течение двух минут. После полного разделения слоев нижний водный слой сливают в химический стакан, а верхний гексаново-эфирный слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия (толщиной около 1 см), помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$. Про-

цедуру повторяют еще дважды порциями смеси гексан–трет-бутилметиловый эфир (1 : 1) объемом 20 см^3, встряхивая в течение 2 мин. Нижний водный слой отбрасывают.

Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы органической фазы в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества.

Безводный сульфат натрия, помещенный на фильтре, дополнительно промывают 10 см^3 смеси гексан–трет-бутилметиловый эфир (1 : 1).

Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, помещенного на бумажном фильтре высокой плотности в конусной воронке, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Для освобождения от следов воды в колбу вносят 4—5 см^3 ацетонитрила и вновь упаривают и подвергают дериватизации по п. 9.3.

9.3. Дериватизация

К сухому остатку в колбе, полученному по п. 9.2, добавляют 3 см^3 раствора диазометана, выдерживают 30 минут при комнатной температуре. Для освобождения от избытка диазометана вносят в колбу 0,1 г силикагеля, выдерживают еще 15 мин. Затем добавляют 0,1 см^3 н-пропанола, отдувают растворитель потоком теплого воздуха (не помещая колбу на подогретую водяную баню) до влажного остатка. Добавляют в колбу 1 см^3 н-гексана и вновь отдувают растворитель до влажного остатка (отсутствие запаха эфира).

Остаток растворяют в 2 см^3 гексана, тщательно перемешивают и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 9.4.

Пробу вводят в испаритель хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков метилового эфира дикамбы, с помощью градуировочного графика определяют концентрацию вещества в хроматографируемом растворе.

9.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с масс-селективным детектором.

Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенил-, 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: квадруполя – 150 °С, источника – 230 °С, переходной камеры – 280 °С.

Температура испарителя: 260 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 100 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 4 градуса в минуту до температуры 170 °С, выдержка 0 мин, нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 260 °С, выдержка 10 мин.

Газ 1 (гелий): поток в колонке 1,2 $см^3$/мин.

Давление: 12,92 *psi*.

Средняя линейная скорость: 41 см/с.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Режим регистрации индивидуальных ионов (*SIM*), *m/z*: 203 (количественный), 188, 234.

Линейный диапазон детектирования: 0,01—0,1 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор метилового эфира дикамбы с концентрацией 0,1 мкг/$см^3$, разбавляют гексаном не более чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание дикамбы в пробе (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

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

X – содержание дикамбы в пробе, мг/кг;

A – концентрация дикамбы, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/$см^3$;

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

m – масса (объем) анализируемого образца, г;

K – коэффициент, учитывающий объем аликвоты экстракта, взятый для анализа ($K = 5$ (семена, масло сои).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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/кг при вероятности $P = 0,95$; где

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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 дикамбы в пробе менее 0,01 мг*/кг»*.

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения дикамбы в семенах и масле сои соответственно.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание дикамбы в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,01 до 0,1 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \le B, \text{ где}$$

X – концентрация дикамбы в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора метилового эфира дикамбы, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (B =10 % при P = 0,95).

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов пиметрозина, предусмотренных МИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.7.

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:

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

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (1)$$

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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

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

Определение остаточных количеств дикамбы в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3455—17

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

Подписано в печать 15.12.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 81

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru