Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пиклорама в кочанах капусты методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3414—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 пиклорама в кочанах капусты методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3414—17

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств пиклорама в кочанах капусты методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—20 с.

ISBN 978—5—7508—1557—9

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (А. В. Довгилевич, В. А. Калинин, Т. С. Калинина, А. В. Калинин, Е. Н. Тестова).

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 14 февраля 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Карташева

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

Подписано в печать 11.09.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 59

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© 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
14 февраля 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пиклорама в кочанах капусты методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3414—17

Свидетельство о метрологической аттестации МВИ № РОСС RU.0001.310430/0258.31.03.2016 от 31.03.2016.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств пиклорама в кочанах капусты в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Пиклорам

4-амино-3,5,6-трихлорпиридил-2-карбоновая кислота.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_6H_3Cl_3N_2O_2$.

Молекулярная масса: 241,5.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: бесцветный, со слабым запахом хлора.

Давление насыщенного пара: $8,4 \times 10^2$ МПа при 25 °С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода при 20 °С: K_{ow} lgP = 1,9 (0,1Н HCl).

Растворимость в воде (мг/дм^3, 20 °С): 430.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 25 °С): ацетон – 19,8; ацетонитрил – 1,6; диэтиловый эфир – 1,2.

Пиклорам стабилен в кислотой и щелочной средах с DT50 при pH 5—9 (25°С) в стерильной воде > 30 дней. В водных растворах разрушается под действием солнечной радиации с DT'so 2,6 дней (при 25 °С).

Краткая токсикологическая характеристика. Пиклорам относится к мало опасным веществам по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг), к чрезвычайно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ (4 ч) для крыс > 35 мг/м^3 воздуха) и к мало опасным веществам по дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов > 2 000 мг/кг) токсичности. Умеренно раздражает глаза, слабо раздражает слизистые оболочки. Не раздражает кожу.

Область применения. Пиклорам – гербицид из группы производных карбоновых кислот системного действия, нарушает ауксиновый обмен, вызывая сильное искривление стеблей и черенков листьев. Применяется для борьбы с двудольными и трудно искореняемыми сорняками в посевах зерновых культур и кукурузы, а также для уничтожения горчака розового и других многолетних сорняков.

Предлагается в России для применения в посевах рапса ярового и озимого с нормой расхода 90 г д.в. на 1 га путем опрыскивания посевов в фазе 3—4 листьев культуры.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,2 мг/кг массы человека; ПДК в воде водоемов – 0,03 мг/дм^3; ПДК в почве – 0,05 мг/кг; ПДК в воздухе рабочей зоны – 10,0 мг/м^3; в атмосферном воздухе – 0,03 мг/м^3; МДУ в продукции (мг/кг): зерно хлебных злаков, кукуруза (зерно, масло), рапс (зерно, масло) – 0,01; ягоды дикорастущие – 0,5. ВМДУ в капусте – 0,01 мг/кг.

1. Погрешность измерений

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 табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для пиклорама

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности) ±δ, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Кочаны капусты	0,01—0,1 вкл.	50	6	17	24

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для пиклорама

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Кочаны капусты	0,01	0,01—0,10	81,05	5,50	2,09

2. Метод измерений

Метод основан на определении пиклорама методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием капиллярной колонки и детектора по захвату электронов после его экстракции подкисленным ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами с последующим бутилированием и очисткой пробы на колонках с флоризилом.

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

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

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 400 г и пределом допустимой погрешности ± 0,5 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 10 $мм^3$ со шкалой деления 0,1 $мм^3$ и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 %	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
pH-метр/милливольтметр с диапазоном измерения 0—14 pH; ± 1 999 мВ	
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф газовый с электронно-захватным детектором (ЭЗД) с пределом детектирования по Линдану 4×10^{-14} $г/см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки; – компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Пиклорам, , аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,9 %	CAS 1918-02-1
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84

Бутанол, ч	ГОСТ 6006—78
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный	ТУ 51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Кислота соляная, хч	ГОСТ 3118—77
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Натрий углекислый, кислый, хч	ГОСТ 4201—79
Флоризил (магния силикат, 99 %,) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш	CAS 1343-88-0

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Блок нагревательный, сухой с регулируемой температурой с пределом 100 °С.	
Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Виалы с тефлоновыми прокладками, стеклянные объемом не менее 20 $см^3$	
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки химические для фильтрования, стеклянные	ГОСТ 8613—75
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием	

объемом 5 дм^3 и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 см^3	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 см^3 и 4 000 см^3 ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренним диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 100 % метилсилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 % с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс., с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 дм^3/мин	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—2 000 см^3	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см^3 и приемной конической колбой объемом 1 000 см^3	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ-6-09-1678—86

Примечание. Допускается применение оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 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—90 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. 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—90.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

– процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с флоризилом для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с флоризилом, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3. Ацетон перегоняют при температуре 56,25 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллят помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 $см^3$ аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 г/$дм^3$ и кипятят в течение 6 ч.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.1.4. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5%-го раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/$дм^3$. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 ч. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 $см^3$ аппарата для перегонки растворителей. Хлористый метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. Приготовление подкисленного ацетонитрила. В емкость, содержащую 1 $дм^3$ ацетонитрила, добавляют 10 $см^3$ 1 н раствора соляной кислоты до pH = 1 и перемешивают содержимое. Раствор готовят под тягой, строго соблюдая технику безопасности.

7.2.1.2. Приготовление раствора 4 н серной кислоты. Мерным цилиндром отбирают 112 $см^3$ концентрированной серной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу объемом 1 000 $см^3$, куда предварительно наливают около 300 $см^3$ дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки. Раствор готовят под тягой, строго соблюдая технику безопасности.

7.2.1.3. Приготовление 2%-го раствора серной кислоты в бутаноле (бутилирующей смеси). Градуированной пипеткой отбирают 2 $см^3$ концентрированной серной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу объемом 100 $см^3$, куда предварительно наливают около 60 $см^3$ бутанола. Затем раствор перемешивают и доводят бутанолом объем в колбе до метки. Раствор готовят под тягой, строго соблюдая технику безопасности.

7.2.1.4. Приготовление 5%-го раствора гидрокарбоната натрия. В мерную колбу на 1 000 $см^3$ переносят 50 г гидрокарбоната натрия, добавляют 200—300 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают содержимое до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.1.5. Приготовление 1 н раствора соляной кислоты. Мерным цилиндром отбирают 82 $см^3$ концентрированной соляной кислоты и осто-

рожно переносят в мерную колбу на 1 000 см^3, куда предварительно наливают около 400 см^3 дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией пиклорама 1,0 мг/см^3. Взвешивают 25 мг пиклорама в мерной колбе объемом 25 см^3. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 120 суток.

7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией пиклорама 10,0 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией пиклорама 1,0 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией пиклорама 0,5 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 4 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 4 хранится в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией пиклорама 0,25 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 5 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 5 хранится в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией пиклорама 0,1 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3,

помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 6 используется для хроматографического исследования и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 6 хранится в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.3. Приготовление стандартных растворов бутилового эфира пиклорама для установления градуировочной характеристики

7.2.3.1. Стандартный раствор № 7 бутилового эфира пиклорама с концентрацией 0,1 мкг/$см^3$. Из стандартного раствора № 3 (п. 7.2.2.3) отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в виалу объемом 40 $см^3$, удаляют растворитель током теплого воздуха и проводят бутилирование как указано в п. 7.4. Получают стандартный раствор № 7 бутилового эфира пиклорама с концентрацией по пиклораму 0,1 мкг/$см^3$. Стандартный раствор бутилового эфира № 7 используется для установления градуировочной характеристики.

7.2.3.2. Стандартный раствор № 8 бутилового эфира пиклорама с концентрацией 0,05 мкг/$см^3$. Из стандартного раствора № 7 отбирают пипеткой 5 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки гексаном. Получают стандартный раствор № 8 бутилового эфира пиклорама с концентрацией по пиклораму 0,05 мкг/$см^3$. Стандартный раствор бутилового эфира № 8 используется для установления градуировочной характеристики.

7.2.3.3. Стандартный раствор № 9 бутилового эфира пиклорама с концентрацией 0,025 мкг/$см^3$. Из стандартного раствора № 8 отбирают пипеткой 5 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки гексаном. Получают стандартный раствор № 9 бутилового эфира пиклорама с концентрацией по пиклораму 0,025 мкг/$см^3$. Стандартный раствор бутилового эфира № 9 используется для установления градуировочной характеристики.

7.2.3.4. Стандартный раствор № 10 бутилового эфира пиклорама с концентрацией 0,01 мкг/$см^3$. Из стандартного раствора № 7 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки гексаном. Получают стандартный раствор № 10 бутилового эфира пиклорама с концентрацией по пиклораму 0,01 мкг/$см^3$. Стандартный раствор бутилового эфира № 10 используется для установления градуировочной характеристики.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика от концентрации пиклорама в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки бутилового эфира пиклорама с концентрацией 0,1; 0,05; 0,025 и 0,01 мкг/$см^3$.

В испаритель хроматографа водят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

По полученным данным строят градуировочный график зависимости площади хроматографического пика (мВ) от концентрации пиклорама в растворе в мкг/см^3.

7.4. Бутилирование

Для приготовления градуировочных растворов отбирают 1 см^3 стандартного раствора № 3 (концентрация пиклорама 1 мкг/см^3) в виалу объемом 40 см^3 и удаляют растворитель током теплого воздуха. К сухому остатку в виале прибавляют 1 см^3 2%-го раствора концентрированной серной кислоты в бутаноле (бутилирующей смеси), полученной по п. 7.2.1.3. Виалу плотно закрывают крышкой, помещают в блок для виал, нагретый до 100 °С, и оставляют на 30 мин. По истечении этого времени виалу вынимают из блока, охлаждают до комнатной температуры, добавляют 10 см^3 гексана и 20—25 см^3 бидистиллированной воды. Смесь интенсивно встряхивают и выдерживают до полного разделения фаз в виале. Верхний гексановый слой используют для приготовления градуировочных растворов, которые применяют для установления градуировочной характеристики.

7.5. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения пиклорама на ней

7.5.1. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г флоризила с зернением 60/100 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см.

В день использования колонку промывают 15 см^3 ацетона и 15 см^3 гексана, смывы отбрасывают.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения пиклорама на колонке с флоризилом

В стакан объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора бутилового эфира пиклорама в гексане с концентрацией по пиклораму 0,1 мкг/см^3, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С. Исходный стакан последовательно обмывают 30 см^3 гексана, затем 10 см смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, вносят на колонку. Затем колонку последовательно промывают пятью порциями смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1

объемом 5 см^3 каждая. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 5 см^3 гексана и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие пиклорам, полноту смывания с колонки и необходимый объем элюата.

Изучение поведения пиклорама на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии флоризила.

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, а также в соответствии с ГОСТ Р 51809—01 «Капуста белокочанная свежая, реализуемая в розничной торговой сети» и ГОСТ 1724—85 «Капуста белокочанная свежая, заготовляемая и поставляемая. ТУ».

Пробы сегментов кочанов капусты хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранятся в морозильной камере при температуре –18 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Капуста

9.1.1. Экстракция

Образец измельченных сегментов кочанов капусты 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, добавляют 50 см^3 подкисленного ацетонитрила и проводят экстракцию в ультразвуковой ванне в течение 10 мин. Фильтруют экстракт в концентратор объемом 250 см^3 через воронку с бумажным фильтром низкой плотности. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 см^3 подкисленного ацетонитрила и помещая банку с образцом в ультразвуковую ванну каждый раз на 5 мин. Экстракты фильтруют и объединяют в концентраторе. Объединенный экстракт выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С.

9.1.2. Очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К водному остатку, полученному по п. 9.1.1, добавляют 5 см^3 ацетона, обмывают стенки концентратора и помещают на 5 мин в ультра-

звуковую ванну. В концентратор двумя порциями добавляют 100 см^3 5%-го раствора гидрокарбоната натрия, ополаскивают стенки концентратора и содержимое переносят в делительную воронку объемом 250 см^3.

Добавляют в делительную воронку 5 г хлорида натрия, растворяя его путем встряхивания. В делительную воронку приливают 30 см^3 гексана и встряхивают содержимое воронки 1—2 мин. После полного разделения фаз нижний слой сливают в стакан объемом 250 см^3, а гексан отбрасывают. Содержимое стакана возвращают в делительную воронку и повторяют процедуру еще раз с тем же объемом гексана.

После промывки гексаном содовую фракцию подкисляют 4 н раствором серной кислоты до pH = 1 (~ 2 см^3). Смесь дегазируют. (**Осторожно! Возможно разбрызгивание раствора!**). Добавляют в воронку 50 см^3 хлористого метилена и встряхивают смесь в течение 1—2 мин. После разделения слоев нижний слой хлористого метилена сливают в концентратор объемом 250 см^3, пропуская через стеклянную воронку с безводным сульфатом натрия. Экстракцию повторяют еще трижды, используя для этого каждый раз по 30 см^3 хлористого метилена. Экстракты собирают в концентратор объемом 250 см^3, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре водяной бани не выше 35 °С.

9.1.3. Бутилирование экстракта

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, последовательно переносят тремя порциями ацетона по 3 см^3 каждая в виалу объемом 40 см^3 и высушивают током теплого воздуха. Проводят бутилирование как указано в пункте 7.4.

9.1.4. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Из верхнего (гексанового) слоя в виале, полученного в п. 9.1.3, отбирают 5 см^3 и наносят на заранее подготовленную колонку с флоризилом.

Промывают колонку 30 см^3 гексана, смыв отбрасывают. Наносят на колонку 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, смыв отбрасывают. Пропускают через колонку 15 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С досуха.

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 5 см^3 гексана и вводят в хроматограф 1 мм^3 раствора.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с электронно-захватным детектором (ЭЗД) с пределом детектирования по Линдану 4×10^{-14} г/см^3 и приспособлениями для капиллярной колонки;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренним диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 100 % метилсилоксана, и толщиной пленки 0,25 мкм.

Температура термостата колонки программированная: нагрев колонки с 220 °С (выдержка 2 мин) по 10 град/мин до 260 °С (выдержка 5 мин).

Температура детектора – 300 °С, испарителя – 260 °С.

Газ 1 (гелий) – тип регулятора расхода газа РРГ 11, режим нормальный, сброс 1 : 5, расход во время анализа – 10 см^3/мин.

Газ 2 (гелий) – давление на входе 100 кПа, линейная скорость – 80 см/мин, поток – 4,1 см^3/мин.

Газ 6 (азот, поддув детектора) – 35 см/мин.

Линейность детектирования сохраняется в пределах – 0,01—0,1 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика.

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

10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется компьютерное программное обеспечение химического анализа, которое входит в хроматографическую систему.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание пиклорама в пробах рассчитывают по формуле, без учета полноты извлечения вещества из проб:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

X – содержание пиклорама в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мВ;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мВ;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;
V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;
m – масса анализируемого образца, г (см^3);
P – содержание пиклорама в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;
r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8 \times \sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

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

«*содержание вещества в пробе менее 0,01 мг/кг*».*

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики 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.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для пиклорама проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 4 месяца, при смене основных градуировочных растворов № 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 – каждый месяц, а также в начале и окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание пиклорама 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:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 5{,}88, \text{ где}$$

X – концентрация пиклорама контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора пиклорама в гексане, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

5,88 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (А) превышает 5,88 %, 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 пиклорама, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – 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:

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

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 и концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}} \qquad (1)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

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

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

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

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

Приложение 1

Полнота извлечения пиклорама из кочанов капусты (5 повторностей для каждой концентрации, P = 0,95)

Среда	Внесено пиклорама, мг/кг (мг/дм^3)	Обнаружено пиклорама, мг/кг (мг/дм^3)	Полнота определения, %
Кочаны капусты	0,01	0,0082 ± 0,0006	82,0
	0,02	0,0206 ± 0,0014	82,4
	0,05	0,0404 ± 0,0029	80,8
	0,10	0,0790 ± 0,0060	79,0

gost.e-ecolog.ru