Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств метомила в корнеплодах моркови, зеленом горошке, зерне гороха, зеленой массе, семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3370—16

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 метомила в корнеплодах моркови, зеленом горошке, зерне гороха, зеленой массе, семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3370—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств метомила в корнеплодах моркови, зеленом горошке, зерне гороха, зеленой массе, семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017.—22 с.

ISBN 978—5—7508—1552—4

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, А. В. Довгилевич, Т. С. Калинина, 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 20 мая 2016 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 5 июля 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1552—4

© Роспотребнадзор, 2017
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
5 июля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств метомила в корнеплодах моркови, зеленом горошке, зерне гороха, зеленой массе, семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3370—16

Свидетельство о метрологической аттестации РОСС RU.0001.310430/0212.16.10.14 от 16.10.2014.

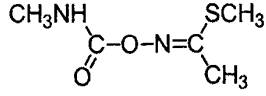
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств метомила в корнеплодах моркови, в зеленом горошке и зерне гороха в диапазоне 0,02—0,25 мг/кг, в зеленой массе, семенах и масле сои в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг

Методические указания носят рекомендательный характер.

Метомил

S-метил N-[[(метиламино)карбонил]окси]этанимидотиоат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_5H_{10}N_2O_2S$.

Молекулярная масса: 162,2.

Агрегатное состояние: кристаллическое вещество.

Цвет, запах: белое вещество со слабым запахом серы.

Давление паров (при 25 °С): 0,72 мПа.

Температура плавления: 78—79 °С.

Коэффициент распределения октанол–вода: K_{ow} log P_{ow} = 0,093.

Растворимость в воде (г/дм^3, при 25 °С): 57,9.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 25 °С): метанол – 1 000; ацетон – 730; этанол – 420; изопропанол – 220; толуол – 30.

Метомил стабилен в воде в течение 30 дней (при pH 5 и 7 и 25 °С); $ДТ_{50}$ около 30 дней (при pH 9 и 25 °С). Термически и фотостабилен.

Краткая токсикологическая характеристика. Метомил относится к веществам чрезвычайно опасным по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс 34 мг/кг), умеренно опасным по дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для кроликов более 2 000 мг/кг) и чрезвычайно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ (4 часа) для крыс 300 мг/м^3 воздуха).

Область применения. Метомил – инсектицид и акарицид из группы карбаматов, ингибитор холинэстеразы желудочно-кишечного действия.

Применяется в России в качестве инсектицида широкого спектра действия для борьбы с вредителями плодовых и цитрусовых культур, винограда, хлопчатника, кукурузы, риса, табака, овощных культур при норме расхода 1—2 л/га по препарату.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,01 мг/кг массы человека; ПДК в воде водоемов – 0,1 мг/ дм^3; ОДК в почве – 0,1 мг/кг; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,1 мг/м^3; в атмосферном воздухе – 0,001 мг/м^3; МДУ в продукции (мг/кг): виноград и плодовые семечковые – 0,3.

МДУ в импортируемой продукции (мг/кг): семена сои – 0,1.

ВМДУ в импортируемой продукции (мг/кг): морковь, зерно гороха и зеленый горошек – 0,02.

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 метомила

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, %
Корнеплоды моркови	0,02—0,05 вкл.	50	3,81	10,59	14,83
	0,125—0,25 вкл.	25	4,92	13,68	19,15
Зеленый горошек	0,02—0,05 вкл.	50	5,36	14,90	20,86
	0,125—0,25 вкл.	25	5,51	15,32	21,45
Зерно гороха	0,02—0,05 вкл.	50	5,91	16,43	23,00
	0,125—0,25 вкл.	25	4,53	12,59	17,63
Зеленая масса сои	0,05—0,1 вкл.	50	6,19	17,21	24,09
	0,25—0,5 вкл.	25	4,98	13,84	19,38
Семена сои	0,05—0,1 вкл.	50	6,14	17,07	23,90
	0,25—0,5 вкл.	25	4,07	11,32	15,84
Масло сои	0,05—0,1 вкл.	50	6,51	18,10	25,34
	0,25—0,5 вкл.	25	6,43	17,88	25,03

Таблица 2

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

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, ±, %
Корнеплоды моркови	0,02	0,02—0,25	83,65	3,50	1,37
Зеленый горошек	0,02	0,02—0,25	82,33	4,45	1,71
Зерно гороха	0,02	0,02—0,25	84,18	4,48	1,77
Зеленая масса сои	0,05	0,05—0,5	83,45	4,38	1,71
Семена сои	0,05	0,05—0,5	82,25	4,58	1,76
Масло сои	0,05	0,05—0,5	81,60	5,35	2,04

2. Метод измерений

Определение остаточного количества метомила осуществляется методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием капиллярной колонки и термоионного детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на колонках с флоризилом и окисью алюминия.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором колонки и условий программирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г

Весы лабораторные общего назначения класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г

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

Хроматографическая система, включающая:

- хроматограф газовый с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по фосфору в паратион-метиле 3×10^{-14} г/$см^3$, снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;
- компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обработку результа-

тов 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

Метомил, CAS 16752-77-5, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,6 %	
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Алюминия окись для хроматографии, ч	ТУ 6-09-3916—75
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
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
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Флоризил (Магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш.	

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	

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
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336—82
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, 250 и 1 000 $см^3$	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 15 м, с неподвижной фазой, содержащей 100 % диметилполисилоксана, 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
Центрифуга лабораторная настольная с максимальным рабочим числом оборотов 4 000 об./мин, с рабочим объемом ротора	

200 $см^3$ × 4 ячейки, с выбираемым временным диапазоном работы от 0 до 100 мин и с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$

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:

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

– измерения 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 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3.

Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °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 4000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 часов.

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 % 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 часов. 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 2 % раствора сульфата натрия.* В мерную колбу на 1 000 см^3 переносят 20 г безводного сульфата натрия, добавля-

ют 200—300 см^3 дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. *Стандартный раствор № 1 с концентрацией метомила 1,0 мг/см^3.* Взвешивают 50 мг метомила в мерной колбе объемом 50 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 метомила 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, установления градуировочной характеристики и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике в течение 30 суток.

7.2.2.3. *Стандартный раствор № 3 с концентрацией метомила 5,0 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 5 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, установления градуировочной характеристики и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.2.4. *Стандартный раствор № 4 с концентрацией метомила 2,5 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 хроматографического исследования, установления градуировочной характеристики и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 4 хранится в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.2.5. *Стандартный раствор № 5 с концентрацией метомила 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 № 5 используется для хроматографического исследования, установления градуировочной характеристики и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 5 хранится в холодильнике в течение 7 суток.

7.2.2.6. *Стандартный раствор № 6 с концентрацией метомила 0,5 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, установления градуировочной характеристики и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 6 хранится в холодильнике в течение 7 суток.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации метомила в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 5,0; 2,5; 1,0 и 0,5 мкг/см^3.

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.

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

7.4. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения метомила на ней

7.4.1. 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.

За день перед использованием колонку промывают 15 см^3 ацетона, тщательно отжимают, а непосредственно перед использованием колонку промывают 15 см^3 гексана.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения метомила на колонке с флоризилом

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора метомила в ацетоне с концентрацией 10,0 мкг/см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С. Исходную колбу об-

мывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, вносят на колонку. Затем колонку последовательно промывают пятью порциями смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2 объемом 5 см^3 каждая. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

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

Определяют фракции, содержащие метомил, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

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

7.5. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения метомила на ней

7.5.1. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 5 г окиси алюминия с зернением 40/250 меш. и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 см^3 ацетонитрила.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения метомила на колонке с окисью алюминия

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора метомила в ацетоне с концентрацией 5,0 мкг/см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходный концентратор последовательно обмывают пятью порциями по 5 см^3 ацетонитрила. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы объемом по 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

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

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

Изучение поведения метомила на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии окиси алюминия.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051-79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТ 32284—13 «Морковь столовая свежая, реализуемая в розничной торговой сети. ТУ», ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма для животных. Отбор проб», ГОСТ 6201—68 «Горох шлифованный. ТУ», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 17109—88 «Соя. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 31760—13 «Масло соевое. ТУ», ГОСТ 32190—13 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы зеленой массы сои, а также корнеплодов моркови и зеленого горошка 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.

Отобранные пробы семян сои подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы соевого масла хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 10 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Зеленая масса сои, корнеплоды моркови и зеленый горошек

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец измельченной зеленой массы сои массой 10 г (для корнеплодов моркови и зеленого горошка – 20 г) помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 30 минут на аппарат для встряхивания проб. Ацетонитрильный экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 $см^3$ через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют двумя порциями ацетонитрила объемом по 50 $см^3$ каждая, помещая каждый раз на 15 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракты фильтруют и объединяют в делительной воронке объемом 250 $см^3$.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 30 $см^3$ гексана и встряхивают делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а нижний слой

(ацетонитрил) возвращают в делительную воронку и повторяют процедуру еще раз, используя 30 см^3 гексана. Нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 250 см^3, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают до водного остатка при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К водному остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, прибавляют 50 см^3 2 % раствора сульфата натрия, тщательно обмывая стенки концентратора, и переносят смыв в делительную воронку объемом 250 см^3. Затем концентратор обмывают еще 50 см^3 2 % раствора сульфата натрия, и все смывы объединяют в делительной воронке.

Метомил экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 50 см^3, каждый раз встряхивая делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия. Осушитель обмывают 10 см^3 хлористого метилена, объединяют смыв с основным экстрактом и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку пробы на колонках с флоризилом.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и вносят на подготовленную колонку. Колонку промывают сначала 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1, а затем 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, элюаты отбрасывают. Метомил элюируют с колонки 25 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.4. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия

Сухой остаток, полученный в п. 9.1.3, растворяют в 5 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и вносят на подготовленную колонку с 5 г окиси алюминия, элюат отбрасывают. Метомил элюируют с колонки 25 см^3 ацетонитрила, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ раствора вводят в хроматограф.

9.2. Зерно гороха и семена сои

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец измельченного зерна гороха массой 20 г (для семян сои – 20 г) помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, прибавляют туда 10 $см^3$ дистиллированной воды, 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания проб на 30 минут. Затем пробу центрифугируют в течение 10 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 $см^3$ через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 $см^3$ ацетонитрила и помещая пробу каждый раз на 30 минут на аппарат для встряхивания проб. Пробы центрифугируют в течение 10 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту. Экстракты фильтруют и объединяют в делительной воронке объемом 250 $см^3$.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 30 $см^3$ гексана и встряхивают делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а нижний слой (ацетонитрил) возвращают в делительную воронку и повторяют процедуру еще раз, используя 30 $см^3$ гексана. Нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают до водного остатка при температуре не выше 30°С.

Далее проводят очистку экстракта, как указано в п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей», п. 9.1.3 «Очистка экстракта на колонке с флоризилом» и п. 9.1.4 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия».

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ раствора вводят в хроматограф.

9.3. Масло сои

9.3.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Из пробы соевого масла отбирают навеску массой 10 г и помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$. Навеску растворяют в 40 $см^3$ гексана, прибавляют туда 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на аппарат для

встряхивания проб на 10 минут. После этого содержимое банки переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой собирают в стакан объемом 250 $см^3$, а верхний слой (гексан) возвращают в банку для экстракции объемом 250 $см^3$ и повторяют экстракцию дважды в тех же условиях. Ацетонитрил объединяют в стакане объемом 250 $см^3$, а гексан отбрасывают.

Объединенный ацетонитрильный экстракт возвращают в чистую делительную воронку объемом 250 $см^3$ и промывают одной порцией гексана объемом 30 $см^3$, встряхивая делительную воронку 2 минуты. Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия и выпаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта, как указано в п. 9.1.2 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей» и п. 9.1.3 «Очистка экстракта на колонке с флоризилом».

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ раствора вводят в хроматограф.

9.4. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по фосфору в паратион-метиле 3×10^{-14} $г/см^3$, снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

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

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренним диаметром 0,25 мм, длиной 15 м, с неподвижной фазой, содержащей 100 % диметилполисилоксана, и толщиной пленки 0,25 мкм.

Температура термостата колонки программированная: начальная температура – 100 °С, выдержка 1 минута, нагрев колонки по 25 °С в минуту до 170 °С, выдержка 3 мин, нагрев колонки по 30 °С до 270 °С.

Температура испарителя – 230 °С, детектора – 300 °С.

Газ 1 – гелий (газ-носитель), давление на входе – 70 кПа; линейная скорость – 38,9 см/с, давление на выходе – 101,3 кПа; поток через колонку – 1,2 $см^3$/мин

Газ 2 – гелий (сброс пробы), режим сплитлесс, расход во время анализа – 10 см^3/мин; деление потока – 1 : 30; начало сброса – 1 мин, длительность сброса – 2 мин.

Газ 4 – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 25 см^3/мин.

Газ 5 – водород, расход во время анализа – 12,5 см^3/мин;

Газ 6 – воздух, расход во время анализа – 200 см^3/мин.

Продувка детектора и испарителя азотом после анализа – по 30 см^3/мин в течение 3 минут при температуре колонки 270 °С.

Объем вводимой пробы: 1 мм^3.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 0,4—5,0 нг.

10. Обработка результатов

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

Выполняется альтернативная обработка результатов.

Содержание метомила 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 метомила 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 метомила 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 0,02 мг/кг».**

* – 0,02 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—2002 «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 метомила проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 4 месяца, при смене основного градуировочного раствора № 2 каждый месяц, при смене основных градуировочных растворов № 3, 4, 5, 6 и 7 – каждые 7 суток, а также в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание метомила в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,5 до 5,0 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 5{,}38\text{, где}$$

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

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

5,38 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 5,38 %, 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 метомила, 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:

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

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 метомила из корнеплодов моркови, зеленого горошка, зерна гороха, зеленой массы, семян и масла сои (5 повторностей для каждой концентрации, P = 0,95)

Среда	Внесено метомила, мг/кг (мг/дм^3)	Обнаружено метомила, мг/кг (мг/дм^3)	Полнота определения, %
Корнеплоды моркови	0,02	0,0168 ± 0,0008	84,0
	0,05	0,0410 ± 0,0015	82,0
	0,125	0,1049 ± 0,0025	83,9
	0,25	0,2118 ± 0,0129	84,7
Зеленый горошек	0,02	0,0161 ± 0,0011	80,5
	0,05	0,0413 ± 0,0012	82,6
	0,125	0,1025 ± 0,0070	82,0
	0,25	0,2103 ± 0,0110	84,1
Зерно гороха	0,02	0,0164 ± 0,0012	82,1
	0,05	0,0421 ± 0,0019	84,2
	0,125	0,1058 ± 0,0060	84,7
	0,25	0,2143 ± 0,0105	85,7
Зеленая масса сои	0,05	0,0415 ± 0,0032	83,0
	0,10	0,0823 ± 0,0037	82,3
	0,25	0,2102 ± 0,0083	84,1
	0,50	0,4219 ± 0,0261	84,4
Семена сои	0,05	0,0405 ± 0,0017	80,9
	0,10	0,0832 ± 0,0063	83,2
	0,25	0,2115 ± 0,0107	84,6
	0,50	0,4014 ± 0,0162	80,3
Масло сои	0,05	0,0411 ± 0,0031	82,2
	0,10	0,0814 ± 0,0066	81,4
	0,25	0,2036 ± 0,0095	81,4
	0,50	0,4066 ± 0,0325	81,3

Определение остаточных количеств метомила в корнеплодах моркови, зеленом горошке, зерне гороха, зеленой массе, семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3370—16

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор К. В. Шмат
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 03.03.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5
Тираж 125 экз. Заказ 16

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

gost.e-ecolog.ru