Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания действующих веществ пестицидов в воде, почве, растительном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2990—12; 4.1.2992—12

Издание официальное

Москва • 2012

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания действующих веществ пестицидов в воде, почве, растительном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний
по методам контроля
МУК 4.1.2990—12; 4.1.2992—12

ББК 51.21
И37

И37 **Измерение** остаточного содержания действующих веществ пестицидов в воде, почве, растительном сырье и пищевых продуктах: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.—35 с.

ISBN 978—5—7508—1103—8

1. Разработаны ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии Россельхоза-кадемии: (Дубовая Л. В., Макеев А. М.).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22.12.2012 № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 19 марта 2012 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

ISBN 978—5—7508—1103—8

© Роспотребнадзор, 2012
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012

Содержание

Измерение остаточного содержания пиримстанила в воде, почве, картофеле, винограде, землянике, томатах, семечковых плодовых культурах, виноградном, томатном и яблочном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2990—12 4

Измерение остаточного содержания флуопирама в картофеле, винограде, землянике, томатах, семечковых плодовых культурах, виноградном, томатном и яблочном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 2992—12 21

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
19 марта 2012 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания пириметанила в воде, почве, картофеле, винограде, землянике, томатах, семечковых плодовых культурах, виноградном, томатном и яблочном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2990—12

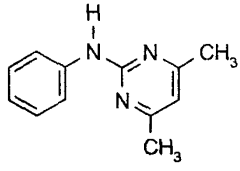
Свидетельство о метрологической аттестации от 29.09.2011 № 01.00225/205-69—11.

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой концентрации пириметанила в воде в диапазоне (0,001—0,01) мг/дм^3, массовой доли в почве в диапазоне (0,01—0,1) млн$^{-1}$ (мг/кг), в картофеле в диапазоне (0,05—0,5) млн$^{-1}$ (мг/кг), в томатах и томатном соке в диапазоне (0,5—5,0) млн$^{-1}$ (мг/кг), в винограде, землянике, яблоках, виноградном и яблочном соках в диапазоне (2,5—10,0) млн$^{-1}$ (мг/кг) методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

Название вещества по номенклатуре ИСО: Пириметанил.

Название вещества по номенклатуре ИЮПАК: N-(4,6-диметилпиримидин-2-ил)анилин.



$C_{12}H_{13}N_3$

Мол. масса: 199,3

Кристаллическое вещество от белого до светло-бежевого цвета. Температура плавления: 96,3 °С. Давление паров при 25 °С: 2,2 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода при 25 °С: K_{ow} log P = 2,84 (pH 6,1). Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – 389, дихлорметан – 1 000, метанол – 176, этилацетат – 617, толуол – 412, н-гексан – 23,7; растворимость в воде (pH 6,1) при 25 °С – 0,121 г/дм^3.

Вещество стабильно при нормальных условиях хранения и не гидролизуется в водном растворе при различных значениях температуры и pH.

В биологически активных почвах в аэробных условиях пириметанил разрушается достаточно быстро (DT_{50} колеблется от 7 до 54 дней).

Краткая токсикологическая характеристика

Пириметанил относится к веществам малоопасным по острой пероральной и дермальной токсичности (LD_{50} для крыс более 5 000 млн$^{-1}$), но умеренно опасным – по ингаляционной токсичности (LC_{50} для крыс более 1 980 мг/м^3). Не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую глаз кролика, не обладает мутагенным и тератогенным эффектом.

Область применения

Пириметанил – контактный фунгицид с местным системным эффектом, обладающий защитным и лечебным действием. Эффективен в борьбе с возбудителями серой гнили и парши на виноградниках, посадках семечковых и косточковых плодовых, овощных и декоративных культурах. Механизм его действия связан с ингибированием синтеза метионина, приводящего к подавлению секреции ферментов, необходимых для процесса заражения.

Проходит регистрационные испытания в Российской Федерации в качестве фунгицида в составе смесевого препарата на посадках картофеля, винограда, земляники, томатов открытого и защищенного грунта, в яблоневых и грушевых садах с нормой расхода от 150 до 450 г д.в./га.

Гигиенические нормативы для пириметанила в картофеле, винограде, землянике, томатах и яблоках в России не установлены. В странах ЕС для пириметанила установлены следующие гигиенические нормативы: MRL в томатах – 1 млн$^{-1}$ (мг/кг), в землянике, яблоках, винограде – 5 млн$^{-1}$ (мг/кг). Чувствительность разработанного в странах ЕС метода анализа пириметанила для картофеля 0,05 млн$^{-1}$ (мг/кг).

2. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и ее составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон измерений содержания пиримета-нила, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности) ± δ, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости, r, %, $P = 0,95$, $n = 2$	Критическая разность для результатов анализа, полученных в двух лабораториях, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$)
1	2	3	4	5	6	7
Вода	От 0,0010 до 0,005 вкл. (мг/дм^3)	50	12	18	33	44
	Св. 0,005 до 0,010 вкл. (мг/дм^3)	40	10	15	28	37
Почва	От 0,010 до 0,05 вкл.	60	15	22	42	53
	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	45	9	18	25	47
Картофель	От 0,05 до 0,10 вкл.	50	12	18	33	44
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	40	9	14	25	35
Томаты	От 0,5 до 1,0 вкл.	55	14	21	39	51
	Св. 1,0 до 5 вкл.	40	9	14	25	35
Томатный сок	От 0,5 до 1,0 вкл.	40	10	15	28	37
	Св. 1,0 до 5 вкл.	30	6	9	17	22
Виноград	От 2,5 до 5 вкл.	20	3	5	8	12,5
	Св. 5,0 до 10 вкл.	10	1,6	3	4,4	8

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Виноградный сок	От 2,5 до 5 вкл.	18	5	7,5	14	18
	Св. 5,0 до 10,0 вкл.	9	1,6	3	4,4	8
Земляника	От 2,5 до 5 вкл.	14	3	5	8	12,5
	Св. 5,0 до 10,0 вкл.	7	1,5	2,5	4	6
Яблоки	От 2,5 до 5 вкл.	21	6,5	10	18	25
	Св. 5,0 до 10 вкл.	12	4	6	11	15
Яблочный сок	От 2,5 до 5 вкл.	12	2,5	4	7	10
	Св. 5,0 до 10 вкл.	6	1,5	2,5	4	6

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции пириметанила из анализируемой пробы органическим растворителем, очистке экстрактов, содержащих пириметанил, от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем, с последующим измерением содержания пириметанила методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) при программировании температуры с использованием термоионного детектора (ТИД) и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

4. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, реактивам и материалам *

4.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Varian CP-3800» с ТИД (США)

Весы аналитические «Sartorius 6110» с наибольшим пределом взвешивания 110 г — ГОСТ Р 53228—2008

Весы лабораторные «Metler P-160» с наибольшим пределом взвешивания 160 г — ГОСТ Р 53228—2008

Набор гирь — ГОСТ 7328—2001

Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2, 2-1000-2 — ГОСТ 1770—74

Пипетки градуированные 1-1-2-1; 1-1-2-2; 1-2-2-5; 1-2-2-10	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 1-25;1-50; 1-100; 1-500; 1-1 000	ГОСТ 1770—74
Микрошприц МШ-1Ф	ТУ 64-1-2850

4.2. Реактивы

Пириметанил (CAS 53112-28-0) с содержанием основного вещества не менее 99,5 % («Байер», Германия)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Вода дистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6709—79
Гелий газообразный, очищенный марки «А»	ТУ 0271-135-31323949—2005
н-Гексан, квалификации хч	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый, квалификации хч	ГОСТ 4221—76
Калия перманганат, квалификации хч	ГОСТ 20490—75
Кальция хлорид, квалификации хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная, квалификации хч	ГОСТ 4204—77
Натрий углекислый, квалификации хч	ГОСТ 83—79
Натрий серно-кислый, безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), квалификации ч	ГОСТ 22300—76

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая, модель D–50 («Branson Instr. Co., США)	
Гомогенизатор «Omni-mixer» («Sorvall», США) или гомогенизатор МРТУ 42-1505	
Генератор водорода, мод. SPE («General Electric», США)	
Компрессор (СКБ «Хроматэк», Россия)	
Дистиллятор «Cyclon III», модель 4 BD («Fistreem», Великобритания)	
Установка «Elgastat B 114» с патроном «Elgacan B 114» для получения деионизированной воды («Elga», Великобритания)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80

Воронки делительные вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336—82
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая VF-5ms (типа SE-52), длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, «Varian» (США)	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 20 см, внутренним диаметром 8—10 мм	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169, «Buchi» (Швейцария)	ТУ 25-11-917—76
Силикагель 60 (0,063—0,2 мм) для колоночной хроматографии («Мерк», Германия)	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641—75)
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные	ТУ 6-09-2678—77

* **Примечание**. Допускается применение средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов иных производителей с аналогичными техническими и метрологическими характеристиками, приведенными в разделе 4.

5. Требования безопасности, охраны окружающей среды

5.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007—76, ГОСТ 12.1.005—88.

5.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ соблюдают требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91, в наличии должны быть средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—90. Обучение работающих правилам безопасности труда проводят согласно ГОСТ 12.0.004—90.

5.3. При выполнении измерений с использованием хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.4. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.51313—03 и 2.2.5.2308—07.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица, имеющие высшее или специальное химическое образование, опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения газохроматографического анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля.

7. Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

7.1. Условия приготовления растворов и подготовки проб к анализу

– температура воздуха	(20 ± 5) °С;
– атмосферное давление	(84—106) кПа;
– относительная влажность воздуха, не более	80 %.

7.2. Условия хроматографического анализа

Температура термостата испарителя	260 °С;
Температура термостата детектора	280 °С.
Режим программирования температуры колонки:	
– начальная температура	170 °С;
– изотермический режим при 170 °С	2 мин;
– скорость подъема температуры:	
в диапазоне от 170 до 220 °С	20 °С/мин;
в диапазоне от 220 до 240 °С	5 °С/мин;
– изотермический режим при 240 °С	3 мин;
– скорость подъема температуры	
в диапазоне от 240 до 280 °С	20 °С/мин;
— изотермический режим при 280 °С	5 мин.
Расход газов:	
газа-носителя (гелий)	2,0 $см^3$/мин;
водорода	4,3 $см^3$/мин;
воздуха	175 $см^3$/мин.
Объем вводимой пробы:	1 $мм^3$.
Время удерживания пириметанила:	(6,33 ± 0,20) мин.
Линейный диапазон детектирования:	0,2—2,0 нг.

8. Подготовка к выполнению измерений

Перед проведением измерений проводят следующие операции: очистку органических растворителей, приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовку колонки с силикагелем, градуировку хроматографа.

8.1. Очистка органических растворителей

8.1.1. Очистка н-гексана

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

Срок хранения – 1 неделя.

8.1.2. Очистка этилацетата

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %.

Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого в конической колбе растворяют в (40—60) $см^3$ дистиллированной воды. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора – 1 неделя.

Этилацетат промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют. Срок хранения – 1 неделя.

8.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 $дм^3$ ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3). Срок хранения – 1 неделя.

8.2. Кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку VF-5ms (типа SE-52) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 290 °С и скорости газа-носителя 2 $см^3$/мин в течение 8—10 ч.

8.3. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 20 см и внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 3 г силикагеля в

10 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают последовательно 15 см^3 ацетона и 10 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 9 : 1 со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.4. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания пиримстанила из колонки с силикагелем

При отработке методики или поступлении новой партии силикагеля проводят определение объема элюента, необходимого для полного вымывания пиримстанила из колонки с силикагелем.

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 градуировочного раствора пиримстанила в смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 8.5.2) и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 9 : 1, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 8.3. Промывают колонку 40 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 9 : 1, со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 50 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, отбирая последовательно по 5 см^3 элюата. Каждую фракцию упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, сухие остатки растворяют в 2 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и затем хроматографируют в соответствии с п. 7.2.

По результатам обнаружения пиримстанила в каждой из фракций определяют объем смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, необходимый для полного вымывания флуопирама из колонки.

8.5. Приготовление градуировочных растворов

8.5.1. Приготовление исходного градуировочного раствора пиримстанила с массовой концентрацией 100 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,0100 ± 0,0001) г пиримстанила, растворяют в (30—40) см^3 этилацетата, доводят объем раствора до метки этилацетатом, тщательно перемешивают.

Раствор хранят при температуре не выше минус 18 °С не более 2 месяцев.

8.5.2. Приготовление градуировочного раствора пириметанила с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного градуировочного раствора пириметанила с массовой концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 8.5.1), разбавляют смесью гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2 до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5.

При оценке полноты извлечения пириметанила для внесения в образцы используют ацетоновые растворы вещества.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновые растворы пириметанила хранят при температуре не выше минус 18 °С в течение месяца.

8.5.3. Приготовление градуировочных растворов пириметанила с массовой концентрацией 0,2—2,0 мкг/см^3 (растворы №.2—5)

В 4 мерные колбы вместимостью 50 см^3 помещают 1, 2, 5 и 10 см^3 градуировочного раствора № 1 пириметанила с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 8.5.2), доводят до метки смесью гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 2—5 с массовой концентрацией пириметанила 0,2, 0,4, 1,0 и 2,0 мкг/см^3 соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.6. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мкВ) от массовой концентрации пириметанила в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 8.5.3) и анализируют при условиях п. 7.2. Каждый раствор хроматографируют дважды. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8.7. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией исследуемого веще-

ства в начале, середине и в конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца выполняется условие:

$$\frac{\left|S_{изм} - S_{гр}\right|}{S_{гр}} \cdot 100 \leq K_{гр}, \text{ где} \qquad (1)$$

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика пиримета нила в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, усл. ед.;

$K_{гр}$ – норматив контроля, $K_{гр} = 0{,}5 \cdot \delta$, где

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности, %, (табл. 1).

Если условие стабильности не выполняется только для одного образца, то повторно анализируют этот образец для исключения результата, содержащего грубую ошибку.

Если градуировка нестабильна, выясняют причины нестабильности и повторяют контроль стабильности с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново.

9. Отбор, хранение и подготовка проб

Отбор проб производят 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) и правилами, определенными ГОСТ Р.51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 17.4.3.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб», ГОСТ 25896—83 «Виноград свежий столовый. ТУ», ГОСТ 25892—83 «Сок виноградный. ТУ», ГОСТ 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки», ГОСТ 1725—85 «Томаты свежие. Требования при заготовке, поставке и реализации», ГОСТ 51808—2001 «Картофель свежий продовольственный, реализуемый в розничной торговой сети. ТУ», ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. ТУ», ГОСТ 26832—86 «Картофель свежий для переработки на продукты питания. ТУ», ГОСТ 6014—68 «Картофель свежий для переработки». ТУ», ГОСТ 6828—89 «Земляника свежая. Требования при заготовках, поставках и реализации».

Пробы воды анализируют в день отбора пробы или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре при температуре не ниже минус 18 °С не более 2 недель.

Пробы почвы подсушивают на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре (4—6) °С не более 4 недель. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре не ниже минус 18 °С.

Пробы клубней, ягод и плодов хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более суток; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре не выше минус 18 °С не более 6 месяцев. Пробы сока хранят при температуре (0—4) °С в герметичной упаковке не более недели, при температуре не выше минус 18 °С в течение 2 месяцев. Перед проведением анализа плоды, клубни и ягоды измельчают.

9.1. Экстракция пириметанила

9.1.1. Экстракция пирметанила из проб воды

В делительную воронку вместимостью 500 см^3 помещают 200 см^3 отфильтрованной воды, добавляют 30 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2 и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз верхний органический слой отделяют и фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу. Водную фазу экстрагируют указанной выше смесью еще дважды порциями по 20 см^3. Объединенную органическую фракцию упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание пириметанила по п. 10.

9.1.2. Экстракция пириметанила из проб почвы

Пробу воздушно-сухой почвы массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетон–вода с объемным соотношением компонентов 8 : 2, перемешивают. Колбу помещают в ультразвуковую ванну на 10 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Почву повторно экстрагируют 50 см^3 смеси ацетон–вода с объемным соотношением компонентов 8 : 2 в течение 30 мин при встряхивании и фильтруют. Объединенный экстракт упаривают на роторном вакуумном испарителе при температуре не выше

40 °С до полного удаления ацетона. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.3. Экстракция пириметанила из клубней, плодов, ягод

Навеску измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 ацетона и гомогенизируют 3 мин при 10 000 об./мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают $^1/_4$ объема экстракта клубней картофеля (эквивалентного 5 г образца) или $^1/_{20}$ объема экстрактов ягод винограда и земляники, плодов томата и яблок (эквивалентного 1 г образца), переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и добавляют 30 см^3 дистиллированной воды. Растворы упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водной фазы (не менее 20 см^3), которую переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.4. Экстракция из проб сока

Навеску (5 г) свежевыжатого сока помещают в химический стакан вместимостью 100 см^3, приливают 100 см^3 дистиллированной воды, перемешивают, измеряют объем раствора и $^1/_5$ его часть (эквивалентную 1 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К экстрактам, полученным по пп. 9.1.2, 9.1.3 и 9.1.4 и помещенным в делительные воронки, приливают по 20 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 20 и 10 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2. Объединенную органическую фракцию упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток экстракта почвы растворяют в 1 см^3, томатного сока в 2,5 см^3, а виноградного и яблочного в 12,5 см^3 смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2,

помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, анализируют на содержание пиримстанила по п. 10. Сухие остатки экстрактов клубней картофеля, ягод и плодов подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем по п. 9.3. (При необходимости такой же очистке подвергаются и пробы почвы, содержащие мешающие определению коэкстрактивные вещества.)

9.3 Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухие остатки экстрактов клубней картофеля, ягод и плодов, полученные по п. 9.2, растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 9 : 1, помещая в ультразвуковую ванну на 2 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 8.3. Колбу обмывают 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 9 : 1, которые также наносят на колонку. Колонку промывают 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 9 : 1 со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Пиримстанил элюируют с колонки 35 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток экстракта клубней картофеля растворяют в 1,25 $см^3$, плодов томата в 2,5 $см^3$, ягод винограда, земляники, яблок в 12,5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, помещая в ультразвуковую ванну на 2 мин, и анализируют на содержание пиримстанила по п. 10.

Полнота извлечения пиримстанила при проведении всех операций подготовки пробы не менее 94 % для проб воды и не менее 88 % для проб почвы, клубней картофеля, плодов, ягод и сока.

10. Выполнение измерений

10.1. В инжектор хроматографа вводят 1 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 9.1—9.3), анализируют при условиях п. 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждой пробы воды, почвы, клубней картофеля, ягод, плодов и сока повторяют операции по пп. 9.1—9.3, 10.1.

11. Обработка результатов измерений

11.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации «Galaxie», версия 1.9.3.2.

Альтернативная обработка результатов.

По градуировочной характеристике находят значение массовой концентрации пиримета нила в экстрактах, C, мкг/см^3.

Массовую концентрацию пиримета нила X, мг/дм^3, в пробах воды рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V}{0,94 \cdot V_в} \qquad (2)$$

Массовую долю пиримета нила X, млн$^{-1}$, в пробах почвы, клубней картофеля, ягод, плодов и сока рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V}{0,88 \cdot m}, \text{ где} \qquad (3)$$

C – значение массовой концентрации пиримета нила в экстракте, мкг/см^3;

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

$V_в$ – объем анализируемой части пробы воды, взятой на экстракцию, см^3;

m – масса анализируемой части пробы, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с силикагелем и последующего хроматографического определения, г;

0,94 и 0,88 – коэффициенты извлечения пиримета нила, учитывающие все процедуры подготовки пробы.

11.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r, \text{ где} \qquad (4)$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой концентрации (доли) пиримета нила, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

r – значение предела повторяемости, % (табл 1).

Если условие (4) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

11.3. Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$\bar{X} \pm 0{,}01\,\delta\,\bar{X} \text{ при } P = 0{,}95, \text{ где}$$

$\bar{X}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми по п. 11.2, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

$\pm\,\delta$ – границы относительной погрешности измерений, % (табл. 1).

В случае если полученный результат измерений ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, результат анализа представляют в виде:

«*массовая концентрация пириметанила в воде менее 0,001 мг/дм^3 (более 0,01 мг/дм^3)*»;

«*массовая доля пириметанила в почве менее 0,01 млн$^{-1}$ (более 0,1 млн$^{-1}$)*»;

«*массовая доля пириметанила в картофеле менее 0,05 млн$^{-1}$ (более 0,5 млн$^{-1}$)*»;

«*массовая доля пириметанила в томатах и томатном соке менее 0,5 млн$^{-1}$ (более 5 млн$^{-1}$)*»;

«*массовая доля пириметанила в винограде, землянике, яблоках, виноградном и яблочном соках менее 2,5 млн$^{-1}$ (более 10 млн$^{-1}$)*».

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал пириметанила, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 2,0 мкг/см^3, разбавляют, но не более чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой.

12. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

12.1. Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

12.2. Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

12.3. Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ по формуле (5)

$$\frac{2 \cdot \left| C_{cp1} - C_{cp2} \right| \cdot 100}{(C_{cp1} + C_{cp2})} \leq CD_{0,95}, \text{ где} \qquad (5)$$

C_{cp1}, C_{cp2} – средние значения массовой концентрации (доли), полученные в первой и второй лабораториях, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

$CD_{0,95}$ – значение критической разности, % (табл. 1).

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, проводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если критическая разность превышена, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (п. 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (п. 5.3.4).

13. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 («Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»), используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по п. .2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 и показателя правильности по п. 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002. Проверку стабильности осуществляют с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля стабильности результатов выполнения измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

14. Разработчики

Дубовая Л. В., науч. сотр.; Макеев А. М., зав. лаб., канд. биол. наук (ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии Россельхозакадемии).

gost.e-ecolog.ru