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

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Методические указания
МУК 4.1.2668—10, 4.1.2675—4.1.2679—10, 4.1.2683—4.1.2684—10, 4.1.2687—10, 4.1.2690—10, 4.1.2706—4.1.2709—10, 4.1.2768—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—228 с.

1. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 10.06.2010 № 1).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 2 августа 2010 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.21

Верстка Е. В. Ломанова

Подписано в печать 25.02.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 14,25

Тираж 200 экз. Заказ 46

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
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

Определение остаточных количеств клотианидина в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса, ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2668—10 4

Методика выполнения измерений остаточного содержания трифлоксистро-бина и его метаболита в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2675—10 20

Методика выполнения измерений остаточного содержания тиаклоприда в зеленой массе, семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2676—10 37

Методика выполнения измерений остаточного содержания протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2677—10 53

Определение остаточных количеств Пеноксулама в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2678—10 70

Определение остаточных количеств гидразида малеиновой кислоты (малеинового гидразида) в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2679—10 89

Методика выполнения измерений остаточного содержания триадименола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2683—10 103

Методика выполнения измерений остаточного содержания тебуконазола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2684—10 117

Методика выполнения измерений остаточного содержания мезосульфурон-метила в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2687—10 131

Методика выполнения измерений остаточного содержания спироксамина в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2690—10 149

Определение остаточных количеств эмамектина (эмамектина бензоата) в воде, почве, капусте, томатах, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2706—10 163

Измерение концентраций пикоксистробина в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2707—10 180

Определение остаточных количеств тирама в растительном масле методом газохроматографического парофазного анализа: МУК 4.1.2708—10 192

Измерение концентраций квинмерака в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2709—10 204

Определение остаточных количеств имидаклоприда в соке яблок и черной смородины, в масле кукурузы высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2768—10 216

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
2 августа 2010 г.
Дата введения: 1 октября 2010 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методика выполнения измерений остаточного содержания спироксамина в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

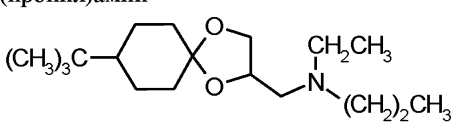
Методические указания
МУК 4.1.2690—10

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой доли спироксамина в ботве сахарной свеклы в диапазоне 0,1—1,0 млн$^{-1}$ (мг/кг), в корнеплодах сахарной свеклы в диапазоне 0,05—0,5 млн$^{-1}$ (мг/кг) методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

Название вещества по ИСО: Спироксамин

Название по ИЮПАК: 8-трет.бутил-1,4-диоксаспиро[4,5]декан-2-илметил-(этил)(пропил)амин



$C_{18}H_{35}NO_2$

Мол. масса: 297,5

Вязкая жидкость бледно-желтого цвета без запаха. Состоит из смеси диастереоизомеров I (49—56 %) и II (51—44 %). Температура кипения: 120 °С (с разложением). Давление паров: I (при 20 °С) – 9,7 мПа, II (при 25 °С) – 17 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода:

K_{OW} log P – 2,79 для I и 2,92 для II. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: в ацетоне, гексане, дихлорметане, пропаноле, толуоле и ацетонитриле – более 200; в воде – более 200 при pH 3, 0,34—0,47 при pH 7, 0,01 при pH 9.

Вещество устойчиво к гидролизу при pH 5—9 и относительно стабильно на свету (DT_{50} = 50,5 дня).

Спироксамин достаточно быстро разрушается в почве (DT_{50} = 35—64 дня).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 560 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 1 600 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 2 772 мг/м^3 воздуха. Спироксамин вызывает сильное раздражение кожи у кроликов. LC_{50} для рыб 18,5 мг/дм^3 (96 ч).

Фунгицид практически нетоксичен для птиц, пчел, дождевых червей и водорослей.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,02 млн$^{-1}$ (мг/кг) массы тела человека; МДУ в корнеплодах сахарной свеклы – 0,1 млн$^{-1}$ (мг/кг).

Область применения препарата

Спироксамин – системный фунгицид, обладающий защитным, лечебным и искореняющим эффектом. Эффективен против возбудителей мучнистой росы, ржавчины, септориоза и пятнистостей на зерновых злаках и оидиума на винограде. Используется главным образом в комбинациях с другими фунгицидами, особенно триазолами, для обработки вегетирующих растений зерновых злаков и сахарной свеклы, а также виноградников в дозах до 150 г д.в. на 1 га.

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 массовой доли спироксамина, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm \delta$, % 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, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$) $P = 0,95$
Ботва сахарной свеклы	От 0,10 до 0,5 вкл.	40	9	14	25	35
	Св. 0,5 до 1,0 вкл.	25	6	9	17	22
Корнеплоды сахарной свеклы	От 0,05 до 0,10 вкл.	42	9	14	25	35
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	35	7	11	19	27

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции спироксамина из ботвы и корнеплодов водным раствором ацетона, очистке экстрактов, содержащих спироксамин, от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с оксидом алюминия с последующим измерением содержания спироксамина в очищенных экстрактах методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) при программировании температуры с термоионным детектором (ТИД) и обработкой хроматограмм по сумме площадей двух пиков изомеров спироксамина методом абсолютной градуировки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен.

4. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. Средства измерений

Газовый хроматограф Varian 3800 (США) с ТИД

Весы лабораторные общего назначения модели ВЛА-200 с наибольшим пределом взвешивания 200 г ГОСТ 24104—2001

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 500 г по	ГОСТ 24104—2001
Набор гирь	ГОСТ 7328—2001
Колбы мерные, вместимостью 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; 1-1000	ГОСТ 1770—74
Иономер универсальный ЭВ-74 или аналогичный	ГОСТ 22261—91
Шприц для ввода образцов для газового хроматографа, вместимостью 1—10 мм^3 (Hamilton, США)	

4.2. Реактивы

Аналитический стандарт спироксамина с содержанием основного вещества 97,4 % (Байер, Германия)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Вода дистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан	ТУ 6-09-3375
Натрия гидроксид, квалификации хч	ГОСТ 4328—77
Натрия хлорид, квалификации хч	ГОСТ 4233—77
Натрия сульфат безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), квалификации ч	ГОСТ 22300—76

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Гелий очищенный марки «А»	ТУ 51-940—80
Гомогенизатор Omni-mixer (Sorvall, США) или гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма «Branson Instr. Co.» (США)	
Воронки делительные, вместимостью 100 и 250 см^3	ГОСТ 25336—82
Воронки конусные диаметром 30—37 мм	ГОСТ 25336—82
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 50, 100 см^3	ГОСТ 25336—82
Колба Бунзена, вместимостью 250 см^3	ГОСТ 25336—82
Колонка кварцевая капиллярная VF-5ms, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм,	

толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза SE-52, фирма «Varian» (США)	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Компрессор (СКБ «Хроматэк», Россия)	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696—75
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы «Buchi» (Швейцария)	ТУ 25-11-917—74
Генератор водорода, модель SPE, фирма «General Electric» (США)	
Оксид алюминия 90 (0,063—0,2 мм) для колоночной хроматографии, нейтральный («Мерк», Германия) I степени активности	
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 или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678—77

Примечание. Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с техническими и метрологическими характеристиками не хуже приведенных 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 и должны быть в наличии средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—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 ГН 2.2.5.2308—07.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя с опытом работы на газовом хроматографе.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

7. Условия выполнения измерений

7.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

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 250 °С;

Температура детектора 300 °С.

Режим программирования температуры колонки:

Начальная температура 150 °С (2 мин);

скорость подъёма температуры до 230 °С (6 мин) 25 °С/мин;

от 230 до 280 °С (5 мин) скорость подъёма температуры 20 °С/мин.

Расход газов:

газа-носителя (гелий) – 2,0 $см^3$/мин;

водорода к ТИД – 4,3 $см^3$/мин;

воздуха к ТИД: 175 $см^3$/мин.

Деление потока: 1 : 2.

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Время удерживания спироксамина: 7,54 мин ± 0,2 мин (изомер 1) и 8,07 мин ± 0,2 мин (изомер II);

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

8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей, приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, градуировка хроматографа, подготовка колонки с оксидом алюминия.

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.

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.

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).

8.2. Приготовление раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3

4 г NaOH помещают в мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$, добавляют 500—600 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают до полного растворения вещества, охлаждают раствор до комнатной температуры, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Срок хранения – 1 месяц.

8.3. Подготовка колонки с оксидом алюминия для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 10 г оксида алюминия нейтрального III степени активности в 15 $см^3$ гексана (оксид алюминия III степени активности по Брокману получают добавлением 6 % воды к навеске оксида алюминия фирмы «Мерк» (Германия) I степени активности). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают 20 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) и 20 $см^3$ гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.4. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания спироксамина из колонки с оксидом алюминия

При отработке методики или поступлении новой партии оксида алюминия проводят определение объёма элюента, необходимого для полного вымывания спироксамина из колонки с оксидом алюминия.

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора № 1 спироксамина с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 в гексане (8.6.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 3 см^3 гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную по 8.3. Промывают колонку 50 см^3 гексана, затем 60 см^3 смеси гексан-этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, отбирая последовательно по 10 см^3 элюента. Каждую фракцию упаривают, остатки растворяют в 2 см^3 гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, а затем хроматографируют. Условия хроматографирования – в соответствии с 7.2.

По результатам обнаружения спироксамина в каждой из фракций определяют объем элюента, необходимый для полного вымывания спироксамина из колонки.

8.5. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку VF-5ms (типа SE-52) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280 °С и скорости газа-носителя 2 см^3/мин в течение 8—10 часов.

8.6. Приготовление градуировочных растворов

8.6.1. Исходный градуировочный раствор спироксамина с массовой концентрацией 100 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,010 ± 0,0001) г спироксамина, растворяют в 40—50 см^3 гексана, доводят объем раствора гексаном до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение 3-х месяцев.

8.6.2. Градуировочный раствор спироксамина с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного градуировочного раствора спироксамина с массовой концентрацией 100 мкг/см^3 (8.6.1), разбавляют гексаном, доводят объем раствора до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5.

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

8.6.3. Градуировочные растворы спироксамина с массовой концентрацией 0,1—1,0 мкг/см^3 (растворы № 2—5)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1,0, 2,0, 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 спироксамина с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (8.6.2), доводят объем раствора до метки гексаном, тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 2—5 с массовой концентрацией спироксамина 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.7. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость суммарной площади пиков изомеров (мкВ · мин) от массовой концентрации спироксамина в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (8.6.3) и анализируют при условиях хроматографирования по 7.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8.8. 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 вещества 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 (1)

$$\frac{\left|S_{изм} - S_{гр}\right|}{S_{гр}} \cdot 100 \le \hat{E}_{гр}, \text{ где} \qquad (1)$$

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – сумма площадей пиков изомеров спироксамина в образце для контроля, измеренная и найденная 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, подготовка и хранение проб

Отбор проб производят 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) и правилами, определенными ГОСТ 17421—82 «Свекла сахарная для промышленной переработки. Требования при заготовках».

Пробы ботвы и корнеплодов сахарной свеклы хранят в холодильнике при температуре (0—4) °С не более суток; для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С до анализа. Перед проведением анализа ботву и корнеплоды измельчают.

9.1. Экстракция спироксамина

Приготовление водного раствора ацетона с объемной долей 70 %. В мерную колбу вместимостью 500 $см^3$ помещают 350 $см^3$ ацетона и доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора 1 неделя.

Навеску измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 $см^3$, приливают 100 $см^3$ водного раствора ацетона с объемной долей 70 % и гомогенизируют 3 мин при 8 000 об./мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 $см^3$. Осадок на фильтре промывают 50 $см^3$ водного раствора ацетона с объемной долей 70 %. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и ¼ его часть (эквивалентную 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Далее проводят очистку экстракта по 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Приготовление насыщенного раствора хлорида натрия. В коническую колбу вместимостью 200 $см^3$ вносят навеску (50 ± 2) г хлорида

натрия, приливают (100 ± 2) $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают в течение 5 мин, полученный раствор фильтруют. Фильтрат является насыщенным раствором хлорида натрия. Срок годности раствора – 1 неделя.

Экстракт, полученный по 9.1 и помещенный в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (5—7 $см^3$) при температуре не выше 40 °С. Водный остаток переносят в химический стакан вместимостью 100 $см^3$, приливают 20 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и доводят pH раствора до 8,5 раствором гидроксида натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/$дм^3$, контролируя щелочность раствора с помощью иономера.. Раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, приливают 30 $см^3$ гексана и смесь встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ гексана. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Дальнейшую очистку проводят по 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по 9.2, растворяют в 3 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 минуту. Раствор наносят на колонку, подготовленную по 8.3. Колбу обмывают 3 $см^3$ гексана, которые также наносят на колонку. Промывают колонку 30 $см^3$ гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Спироксамин элюируют с колонки 50 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. Сухие остатки экстрактов корнеплодов и ботвы растворяют соответственно в 2,5 и 5 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание спироксамина по 10.

Полнота извлечения спироксамина при проведении всех операций подготовки пробы не менее 86 %.

10. Выполнение измерений

10.1. В испаритель хроматографа вводят 1 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (9.1—9.3), анализируют при условиях 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды. Каждый раз вычисляют сумму площадей пиков изомеров, затем рассчитывают их среднее значение.

10.2. Для каждого образца повторяют операции по 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».

Альтернативная обработка результатов.

Массовую долю спироксамина X, млн$^{-1}$, в ботве и корнеплодах сахарной свеклы рассчитывают по формуле (2)

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot V}{0{,}86 \cdot S_0 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

S_1 – сумма площадей пиков изомеров спироксамина в образце, мкВ · мин;

S_0 – сумма площадей пиков изомеров спироксамина в градуировочном растворе, мкВ · мин;

A – массовая концентрация градуировочного раствора спироксамина, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с оксидом алюминия и последующего хроматографического определения, г.

11.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (3)

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли спироксамина, млн$^{-1}$;

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

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МВИ.

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

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

$\overline{X}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми по 11.2, млн$^{-1}$.

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

В случае, если полученный результат измерений ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, то производят следующую запись в журнале:

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

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

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал спироксамина (сумма площадей пиков изомеров), превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют гексаном, но не более чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой. При расчёте содержания спироксамина учитывают разбавление.

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 (4)

$$\frac{2 \cdot \left| \tilde{O}_{\tilde{n}\delta 1} - \tilde{O}_{\tilde{n}\delta 2} \right| \cdot 100}{(\tilde{O}_{\tilde{n}\delta 1} + \tilde{O}_{\tilde{n}\delta 2})} \le CD_{0,95}, \text{ где} \qquad (4)$$

X_{cp1}, X_{cp2} – средние значения массовой доли спироксамина, полученные в первой и второй лабораториях, 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 (5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (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, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 и показателя правильности по 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 ВНИИ фитопатологии, 143050, Московская обл., п/о Большие Вяземы).

gost.e-ecolog.ru