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 мезосульфурон-метила в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

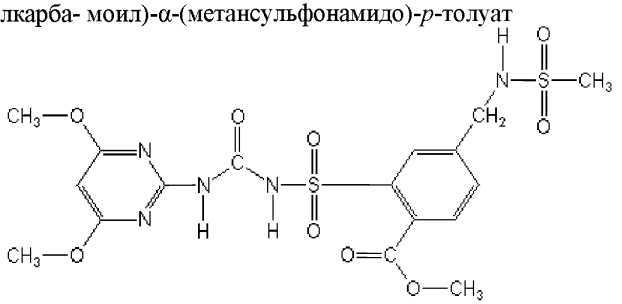
Методические указания
МУК 4.1.2687—10

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой концентрации мезосульфурон-метила в воде в диапазоне 0,001—0,01 мг/дм^3, массовой доли в почве и зерне в диапазоне 0,01—0,1 млн$^{-1}$ (мг/кг), в зеленой массе и соломе в диапазоне 0,05—0,5 млн$^{-1}$ (мг/кг) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Название вещества по ИСО: мезосульфурон-метил

Название вещества по ИЮПАК: метил 2-[(4,6-диметоксипиримидин-2-илкарба- моил)-α-(метансульфонамидо)-*p*-толуат



$C_{17}H_{21}N_5O_9S_2$

Мол. масса: 503,5

Светло-желтоватое кристаллическое вещество. Температура плавления: 195,4 °С. Давление паров при 25 °С: $1{,}1 \cdot 10^{-8}$ мПа. Коэффициент распределения в системе н-октанол/вода при 20 °С: $K_{ow} \log P = 1{,}9$ (pH 4), 1,39 (pH 5), – 0,48 (pH 7), – 2,06 (pH 9). Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – 13,66, ацетонитрил – 8,4, дихлорметан – 3,8, этилацетат – 2,0, гексан – < 0,2, вода – 0,007 (pH 4), 0,48 (pH 7), 15,4 (pH 9).

Вещество стабильно на воздухе и на свету, быстро гидролизуется в водном растворе при pH 4 (DT_{50} = 3,5 дня).

Мезосульфурон-метил относительно слабо передвигается по почвенному профилю и достаточно быстро разрушается в аэробных условиях (DT_{50} = 39,1 дня).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс > 1,33 мг/дм^3 воздуха. Вещество обладает обратимым раздражающим действием на слизистую оболочки глаз кролика; не обладает сенсибилизирующими свойствами. LC_{50} для рыб 100 мг/дм^3 (96 ч). Гербицид практически нетоксичен для птиц, пчел, земляных червей, дафний.

Область применения

Мезосульфурон-метил – послевсходовый гербицид системного действия из класса сульфонилмочевин. Механизм его действия связан с подавлением синтеза аминокислот с разветвленной цепью (валин и изолейцин), приводящего к прекращению клеточного деления и роста. Он эффективно уничтожает злаковые (*Echinochloa cruss-galli, Setaria spp., Elytrigia repens, Sorgum halepense*) и широколистные сорные растения в посевах зерновых колосовых культур. Применяется в дозах до 15 г д.в./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 содержания мезосульфурон-метила, 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, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$)
Вода	От 0,0010 до 0,005 вкл. (мг/дм^3)	75	17	25	47	61
	Св. 0,005 до 0,010 вкл. (мг/дм^3)	60	13	20	36	49
Почва	От 0,010 до 0,05 вкл.	70	15	22	42	53
	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	50	10	15	28	37
Зеленая масса	От 0,05 до 0,10 вкл.	60	13	20	36	49
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	35	9	14	25	34
Зерно	От 0,010 до 0,05 вкл.	65	17	25	47	61
	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	50	10	15	28	37
Солома	От 0,05 до 0,10 вкл.	65	18	27	50	66
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	35	9	14	25	34

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции мезосульфурон-метила из воды хлористым метиленом, из почвы смесью ацетонитрила и бикарбоната натрия, из зелёной массы, зерна и соломы водным раствором ацетона, очистке экстрактов, содержащих мезосульфурон-метил, от коэкстрактивных компонентов перераспределением их в системе несмешивающихся растворителей в щелочной и кислой средах, а также на колонке с

силикагелем, с последующим измерением содержания мезосульфурон-метила в очищенных экстрактах на жидкостном хроматографе с ультрафиолетовым детектированием и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен.

4. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф «Breeze» с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (Waters, США)	номер Госреестра 15311-02
Весы лабораторные аналитические ВЛА-200 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и погрешностью взвешивания 0,0001 г	ГОСТ 24104—2001
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 500 г	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 жидкостного хроматографа, вместимостью 100 мм^3, модель Microliter # 1710 («Hamilton»,США)	
Мезосульфурон-метил, с содержанием основного вещества 98,5 % (Байер, Германия)	

4.2. Реактивы

Ацетон, квалификации «чда»	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для хроматографии, квалификации хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода дистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6709—72

Калий фосфорно-кислый двузамещенный, квалификации чда	ГОСТ 2493—75
Кислота орто-фосфорная, квалификации хч, 85,6 %	ГОСТ 6552—80
Метилен хлористый (дихлорметан), квалификации хч	ГОСТ 12794—80
Натрия гидроксид, квалификации хч	ГОСТ 4328—77
Натрия сульфат безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый кислый, квалификации хч	ГОСТ 4201—66
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), квалификации ч	ГОСТ 22300—76

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма «Branson Instr. Co.» (США)	
Дистиллятор Cyclon III, модель 4BD, фирма Fistreem Int. Ltd. (Великобритания)	
Установка Elgastat B 114 с патроном Elgacan C 114 для получения деионизованной воды, фирма Elga Ltd. (Великобритания)	
Вата медицинская	ТУ 9393-001-00302238
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные, вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки конусные диаметром 30—37 мм	ГОСТ 25336—82
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505—65
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 25 и 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные, вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Колонка хроматографическая стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry C18, зернение 5 мкм, Waters Corporation (США)	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696—75
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель B-169 фирмы «Buchi» (Швейцария)	ТУ 25-11-917—74
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
или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	
Фильтры мембранные, диаметром 47 мм с размером пор 0,45 мкм, фирма Pall Corp. (США)	
Центрифуга Т-23 (Janetzki) или аналогичная	

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

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 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, 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.

7. Условия измерений

7.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

Приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят в следующих условиях:

– температура воздуха (20 ± 5) °С,

– атмосферное давление (84—106) кПа

– относительная влажность воздуха не более 80 %.

7.2. Условия хроматографического анализа

Температура колонки: 27 °С

Подвижная фаза: ацетонитрил–орто-фосфорная кислота с молярной концентрацией 0,01 моль/дм^3 (1 : 1)

Скорость потока элюента: 0,5 см^3/мин

Рабочая длина волны: 233 нм

Чувствительность: 0,001 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 5 мм^3

Время удерживания мезосульфурон-метила: 7,0 мин ± 0,2 мин

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

8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей, приготовление растворов и подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, градуировка хроматографа, подготовка колонки с силикагелем.

8.1. Очистка органических растворителей

8.1.1. Очистка ацетона

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

8.1.2. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют. Непосредственно перед применением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

8.1.3. Очистка этилацетата

Приготовление раствора натрия углекислого кислого с массовой долей 5 %. Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого кислого 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.

Растворитель промывают равным объёмом раствора натрия углекислого кислого с массовой долей 5 %, сушат над безводным хлоридом кальция и перегоняют над свежей порцией хлорида кальция.

8.1.4. Очистка хлористого метилена

Приготовление раствора гидроксида натрия с массовой долей 2 %

Навеску 2 ± 0,1 г гидроксида натрия 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 месяц.

Хлористый метилен встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока свежая порция кислоты не перестанет окрашиваться. Затем растворитель последовательно промывают водой, раствором гидроксида натрия с массовой долей 2 % и снова водой до нейтральной реакции промывных вод, после чего сушат над поташом и перегоняют.

8.1.5. Очистка силикагеля

Силикагель 60 (0,063—0,20 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона, высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре в течение 5—6 часов и затем активируют при температуре 130 °С в течение 5 часов.

8.2. Приготовление растворов орто-фосфорной кислоты

8.2.1. Приготовление раствора орто-фосфорной кислоты с молярной концентрацией 2 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 вносят 137 см^3 85,6 %-ой орто-фосфорной кислоты, добавляют 500—600 см^3 деионизованной воды, перемешивают и доводят объем раствора водой до метки.

Срок хранения – 1 месяц.

8.2.2. Приготовление раствора орто-фосфорной кислоты с молярной концентрацией 0,01 моль/дм^3

Отбирают 5 см^3 раствора орто-фосфорной кислоты с молярной концентрацией 2 моль/дм^3, переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3, добавляют деионизованную воду и доводят объем раствора до метки, раствор перемешивают.

Срок хранения – 1 месяц.

8.3. Приготовление раствора $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ с молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3

22,8 г $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ растворяют в химическом стакане в 400 см^3 деионизованной воды, раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3, добавляют деионизованную воду и доводят объем раствора до метки, раствор перемешивают.

Срок хранения – 1 месяц.

8.4. Приготовление раствора $NaHCO_3$ с молярной концентрацией 0,06 моль/дм^3

5,04 г $NaHCO_3$ растворяют в химическом стакане в 400 см^3 деионизованной воды, раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3, добавляют деионизованную воду и доводят объем раствора до метки, раствор перемешивают.

Срок хранения – 1 неделя.

8.5. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, объем раствора доводят до метки водным раствором ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 0,01 моль/дм^3 (8.2), раствор перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр, дегазируют.

8.6 Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку Symmetry C18 устанавливают в термостат хроматографа и стабилизируют при температуре 27 °С и скорости потока приготовленной по 8.5 подвижной фазы 1 см^3/мин не менее часа до установления стабильной базовой линии (дрейф базовой линии в течение 1 часа не более 5 %, а уровень шумов не более 2 % диапазона выходного сигнала на шкале измерений).

8.7. Подготовка колонки с силикагелем 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 5 г силикагеля в 30 см^3 смеси ацетон–этилацетат (7 : 3, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 30 см^3 смеси ацетон–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.8. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания мезосульфурон-метила из колонки с силикагелем

При отработке методики или поступлении новой партии силикагеля проводят определение объёма элюента, необходимого для полного вымывания мезосульфурон-метила из колонки с силикагелем.

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора мезосульфурон-метила с массовой концентрацией 10 $мкг/см^3$ в ацетонитриле (8.9.2). Раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 $см^3$ смеси ацетон–этилацетат (1 : 1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по 8.5. Промывают колонку 50 $см^3$ смеси ацетон–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Затем через колонку пропускают 100 $см^3$ смеси ацетон–этилацетат (7 : 3, по объему), отбирая последовательно по 10 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 2 $см^3$ подвижной фазы, подготовленной по 8.7, перемешивают, а затем хроматографируют. Условия хромтографирования – в соответствии с 7.2.

По результатам обнаружения мезосульфурон-метила в каждой из фракций определяют объем смеси ацетон–этилацетат (7 : 3, по объему), необходимый для полного вымывания мезосульфурон-метила из колонки.

Примечание: Профиль вымывания мезосульфурон-метила может меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

8.9. Приготовление градуировочных растворов

8.9.1. Приготовление исходного градуировочного раствора мезосульфурон-метила с массовой концентрацией 100 $мкг/см^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г мезосульфурон-метила, растворяют в 40—50 $см^3$ ацетонитрила, доводят объем раствора ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

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

8.9.2. Приготовление градуировочного раствора мезосульфурон-метила с массовой концентрацией 10 $мкг/см^3$ (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора мезосульфурон-метила с массовой концентрацией 100 $мкг/см^3$ (8.9.1), раствор разбавляют ацетонитрилом и доводят объем до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение месяца.

8.9.3. Приготовление градуировочных растворов мезосульфурон-метила с массовой концентрацией 0,02—0,20 мкг/см^3 (растворы № 2—5)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 0,2; 0,4; 1,0 и 2,0 см^3 градуировочного раствора мезосульфурон-метила с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (8.9.2), объем доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по 8.5, каждый раствор тщательно перемешивают, получают растворы № 2—5 с массовой концентрацией мезосульфурон-метила 0,02; 0,04; 0,1 и 0,2 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.10. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мкВ · с) от массовой концентрации мезосульфурон-метила в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4-м градуировочным растворам (8.9.3).

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм^3 каждого градуировочного раствора (8.9.3) и анализируют при условиях 7.2. Каждый раствор хроматографируют дважды. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8.11. 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)

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

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика мезосульфурон-метила 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, подготовка и хранение 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», 1743.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», 26950—89 «Почвы. Отбор проб», Р 50436—92 «Зерновые. Отбор проб зерна».

Пробы воды анализируют в день отбора или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре –18 °С не более 2-х недель.

Образцы почвы подсушивают при комнатной температуре в течение 24 ч на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С не более 4-х недель. Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Пробы зеленой массы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Пробы зерна и соломы высушивают до влажности (в соответствии с ГОСТ 10852—86) и хранят в холодильнике при температуре 4 °С.

9.1. Экстракция мезосульфурон-метила

9.1.1. Экстракция мезосульфурон-метила из образцов воды

Приготовление раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 1 моль/дм^3. Навеску (4 ± 0,1) г NaOH в конической колбе растворяют в 40—60 см^3 дистиллированной воды. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой. Срок хранения раствора 1 месяц.

К образцу предварительно отфильтрованной воды объемом 100 см^3 добавляют 2,28 г $K_2HPO_4 \times 3H_2O$, перемешивают до растворения соли, доводят pH раствора до 9 с помощью раствора гидроксида натрия с мо-

лярной концентрацией 1 моль/дм^3, контролируя щёлочность раствора с помощью иономера. Полученный раствор переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, приливают 25 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После расслоения органическую фазу отбрасывают, а водную фракцию еще дважды обрабатывают порциями хлористого метилена объемом 15 и 10 см^3. Водную фракцию переносят в химический стакан, подкисляют раствором орто-фосфорной кислоты с молярной концентрацией 2 моль/дм^3 до pH 3, контролируя кислотность раствора с помощью иономера. Раствор переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, приливают 25 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения слоев органическую фазу собирают. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 15 и 10 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую фазу пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают на роторном испарителе досуха при температуре 40 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ (8.5) и анализируют на содержание мезосульфурон-метила по 10.

9.1.2. Экстракция мезосульфурон-метила из образцов почвы

Навеску (20 г) воздушно-сухой почвы помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 80 см^3 смеси ацетонитрил–раствор $NaHCO_3$ с молярной концентрацией 0,06 моль/дм^3 (1 : 1, по объёму), встряхивают в течение 30 мин на аппарате для встряхивания. Суспензию помещают в ультразвуковую ванну на 3 мин, центрифугируют 5 мин при 6 000 об./мин и супернатант фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. К остатку почвы в центрифужной пробирке приливают 40 см^3 смеси ацетонитрил–раствор $NaHCO_3$ с молярной концентрацией 0,06 моль/дм^3 (1 : 1, по объёму), перемешивают, центрифугируют и супернатант фильтруют через бумажный фильтр. Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С до водного остатка объёмом не более 30 см^3. К водному остатку добавляют деионизованную воду до объёма 40 см^3. Дальнейшую очистку экстракта проводят по 9.2.

9.1.3. Экстракция мезосульфурон-метила из образцов зерна

Образец размолотого зерна массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетон–вода (90 : 10, по объему) и помещают на встряхиватель на 30 мин. Суспензию обрабатывают в ультразвуковой ванне в течение 3 мин и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Растительные

остатки переносят в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ смеси ацетон–вода (90 : 10, по объему), помещают на встряхиватель на 30 мин и фильтруют. Объединенный экстракт упаривают до водного остатка (около 5 $см^3$) на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. К водному остатку добавляют раствор K_2HPO_4 с молярной концентрацией 0,1 моль/$дм^3$ до объёма 50 $см^3$ и проводят очистку по 9.2.

9.1.4. Экстракция мезосульфурон-метила из образцов зеленой массы и соломы

Образец измельчённой зелёной массы или размолотой соломы массой 10 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ смеси ацетон–вода (90 : 10, по объему) и гомогенизируют 3 мин при 10 000 об./мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 $см^3$. Растительные остатки переносят в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ смеси ацетон–вода (90 : 10, по объему), помещают на встряхиватель на 30 мин и фильтруют. Объединенный экстракт упаривают до водного остатка (около 5 $см^3$) на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. К водному остатку добавляют раствор K_2HPO_4 с молярной концентрацией 0,1 моль/$дм^3$ до объёма 50 $см^3$ и проводят очистку по 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водные экстракты, полученные по 9.1.2, 9.1.3 и 9.1.4, переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, приливают 25 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После расслоения органическую фазу отбрасывают, а водную фракцию еще дважды обрабатывают 15 и 10 $см^3$ хлористого метилена. Водную фракцию переносят в химический стакан, подкисляют раствором орто-фосфорной кислоты с молярной концентрацией 2 моль/$дм^3$ до pH 3, контролируя кислотность раствора с помощью иономера. Раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, приливают 25 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения слоев органическую фазу фильтруют через слой безводного сульфата натрия в мерный цилиндр вместимостью 100 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 15 и 10 $см^3$ хлористого метилена. Измеряют объем объединенной органической фазы и его часть, эквивалентную 2 г почвы и зерна, либо 1 г зелёной массы и соломы, переносят в круглодонную колбу вместимостью 25 $см^3$. Раствор

упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный по 9.2, растворяют в 3 см^3 смеси ацетон–этилацетат (1 : 1, по объёму), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по 8.7. Колбу обмывают 2 см^3 смеси ацетон–этилацетат (1 : 1, по объёму), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 45 см^3 смеси ацетон–этилацетат (1 : 1, по объёму) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Мезосульфурон-метил элюируют с колонки 100 см^3 смеси ацетон–этилацетат (7 : 3, по объёму), элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. Сухой остаток экстрактов почвы и зерна растворяют в 1 см^3, зелёной массы и соломы – в 2,5 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ, подготовленной по 8.5, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание мезосульфурон – метила по 10.

Полнота извлечения мезосульфурон-метила при проведении всех операций подготовки пробы не менее 79 % для образцов почвы, зерна, зелёной массы и соломы и не менее 91 % для образцов воды.

10. Выполнение измерений

10.1. В инжектор хроматографа вводят 5 мм^3 очищенного экстракта анализируемой пробы (9.1.1—9.1.4), анализируют при условиях (7.2) и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждого образца воды, почвы, зеленой массы, зерна и соломы повторяют операции по 9.1—9.3, 10.1.

11. Обработка результатов измерений

11.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программное обеспечение «Breeze».

Альтернативная обработка результатов.

По градуировочной характеристике находят значение массовой концентрации мезосульфурон-метила в экстрактах, C, мкг/см^3.

Массовую концентрацию мезосульфурон-метила X, мг/дм^3, в образцах воды рассчитывают по формуле (2)

$$X = \frac{\tilde{N} \cdot V_{\text{ýêñò ð}}}{0{,}91 \cdot V_{\text{âî äû}}}, \qquad (2)$$

Массовую долю мезосульфурон-метила X, млн$^{-1}$, в образцах почвы, зерна, зеленой массы и соломы рассчитывают по формуле (3)

$$X = \frac{\tilde{N} \cdot V_{\text{ýêñòð}}}{0,79 \cdot m}, \text{ где} \quad (3)$$

C – значение массовой концентрации мезосульфурон-метила в экстракте, мкг/см^3;

$V_{экстр}$ – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

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

$V_{воды}$ – объем анализируемой части образца воды, взятой на экстракцию, см^3;

0,79 и 0,91 – коэффициент извлечения мезосульфурон-метила, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

11.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (4)

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой концентрации (доли) мезосульфурон-метила, 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 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, 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, то производят следующую запись в журнале:

«*массовая концентрация мезосульфурон-метила в воде менее 0,001 мг/дм³ (более 0,01 мг/дм³)*»;

«*массовая доля мезосульфурон-метила в почве менее 0,01 млн⁻¹ (более 0,1 млн⁻¹)*»;

«*массовая доля мезосульфурон-метила в зеленой массе менее 0,05 млн⁻¹ (более 0,5 млн⁻¹)*»;

«*массовая доля мезосульфурон-метила в зерне менее 0,01 млн⁻¹ (более 0,1 млн⁻¹)*»;

«*массовая доля мезосульфурон-метила в соломе менее 0,05 млн⁻¹ (более 0,5 млн⁻¹)*»;

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал мезосульфурон-метила, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,2 мкг/см³, разбавляют, но не более чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой. При расчёте содержания мезосульфурон-метила 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 (5)

$$\frac{2 \cdot \left| \tilde{N}_{\text{ñð1}} - \tilde{N}_{\text{ñð2}} \right| \cdot 100}{(\tilde{N}_{\text{ñð1}} + \tilde{N}_{\text{ñð2}})} \le CD_{0,95}, \text{ где} \qquad (5)$$

$C_{ср1}$, $C_{ср2}$ – средние значения массовой концентрации (доли), полученные в первой и второй лабораториях, мг/дм³ (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 («Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»), 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

Микитюк О. Д., ст. науч. сотр., канд. биол. наук; Назарова Т. А., науч. сотр., канд. биол. наук; Макеев А. М., зав. лаб., канд. биол. наук (ВНИИ фитопатологии, 143050, Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 692-92-20).

gost.e-ecolog.ru