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 протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

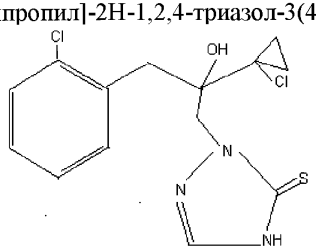
Методические указания
МУК 4.1.2677—10

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой доли протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в семенах и масле рапса в диапазоне 0,02—0,2 млн$^{-1}$ (мг/кг), в зеленой массе рапса в диапазоне 0,05—0,5 млн$^{-1}$ (мг/кг) методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

Название вещества по ИСО: протиоконазол

Название вещества по ИЮПАК: 2-[(2RS)-2-(1-хлорциклопропил)-3-(2-хлорфенил)-2-оксипропил]-2Н-1,2,4-триазол-3(4Н)-тион



$C_{14}H_{15}Cl_2N_3OS$
Мол. масса: 344,3

Бесцветное или светло-бежевое твердое вещество без запаха. Температура плавления: 139,1—144,5 °С. Давление паров при 20 °С: $<< 4 \cdot 10^{-7}$ Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 4,16 (pH 4), 3,82 (pH 7) и 2,0 (pH 9). Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – >250, этилацетат – > 250, дихлорметан – 88, ацетонитрил – 69; растворимость в воде – 0,005 (pH 4), 0,3 (pH 8) и 2,0 (pH 9).

Вещество стабильно при хранении на воздухе, а также в кислой (DT_{50} = 120 дней) и щелочной (DT_{50} = >1 года) средах.

В присутствии света в водных фотолитических условиях протиоконазол достаточно быстро деградирует с периодом полураспада 47,7 часа.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 6 200 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 4 990 мг/м^3 воздуха.

Протиоконазол не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз, не обладает эмбриотоксическим или тератогенным действием. LC_{50} для рыб – 1,83 мг/дм^3 (96 ч).

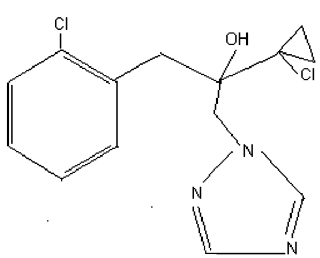
Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел, дождевых червей, дафний и почвенных микроорганизмов.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,05 млн$^{-1}$ (мг/кг) массы тела человека; ПДК в воде водоемов – 0,03 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,1 млн$^{-1}$ (мг/кг); МДУ в семенах и масле рапса – 0,05 млн$^{-1}$ (мг/кг).

Основной метаболит протиоконазола: протиоконазол-дестио (SXX 0665)

α-(1-хлорциклопропил)-α-(2-хлорфенил)метил-1Н-1,2,4-триазол-1-этанол (С.А.)



$C_{14}H_{15}Cl_2N_3O$
Мол. масса: 312,2

Бесцветный порошок без запаха. Температура плавления: 108,5 °С. Давление паров при 20 °С: $2,7 \cdot 10^{-7}$ Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 3,04. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: гексан – 3, толуол – 84, ацетон – 100, ацетонитрил – 43, дихлорметан – > 200, вода – 0,051.

Метаболит стабилен в кислой и щелочной средах (DT_{50}= > 500 часов).

Область применения препарата

Протиоконазол – фунгицид системного действия из группы ингибиторов синтеза эргостерина. Вещество обладает защитным, искореняющим и лечебным действием. При обработке вегетирующих растений оно эффективно подавляет развитие возбудителей ржавчины, мучнистой росы, септориоза, фузариоза колоса, ломкости стеблей и пятнистостей листьев на посевах ячменя, пшеницы и других культур, а при протравливании семян защищает последние от заражения твердой и пыльной головней и фузариозной корневой гнилью.

Применяется в России в качестве фунгицида системного действия в составе смесевых препаратов для протравливания зерна колосовых культур и обработки вегетирующих растений зерновых злаков и рапса с нормой расхода (37—50) г д.в./т семян или (80—100) г д.в./га.

Протиоконазол весьма лабильное вещество и при поступлении в растение очень быстро метаболизируется до более устойчивого соединения – протиоконазол-дестио (α-(1-хлорциклопропил)-α-(2-хлорфенил)метил-1Н-1,2,4-1-этанол). В связи с этим разработан метод, позволяющий осуществлять контроль за содержанием остаточных количеств протиоконазола в зеленой массе растений, семенах и масле рапса по протиоконазол-дестио.

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 протиоконазол-дестио, $млн^{-1}$ (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, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$) $P = 0,95$
Зеленая масса	От 0,05 до 0,10 вкл.	34	6	9	17	22
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	23	4	6	11	15
Семена	От 0,02 до 0,10 вкл.	50	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,20 вкл.	33	6	9	17	22
Масло	От 0,02 до 0,10 вкл.	57	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,20 вкл.	35	6	9	17	22

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции метоболита протиоконазол-дестио из зеленой массы водным раствором ацетона, из семян и масла ацетонитрилом, очистке экстрактов, содержащих коэкстрактивные компоненты, перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с оксидом алюминия с последующим измерением содержания протиоконазол-дестио в очищенных экстрактах методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) при программировании температуры с термоионным детектором (ТИД) и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен.

4. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ТИД на азотсодержащие вещества с пределом детектирования не выше $2{,}82 \cdot 10^{-14}$ г/с (СКБ «Хроматэк», Россия)	
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	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
Шприц для ввода образцов для газового хроматографа, вместимостью 1—10 мм^3 («Hamilton», США)	

4.2 Реактивы

Аналитический стандарт протиоконазол-дестио (SXX 0665) с содержанием основного вещества 98,5 % (Байер, Германия)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Гелий очищенный марки «А» (или азот)	ТУ 51-940—80
Ацетонитрил, квалификации хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода дистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан	ТУ 6-09-3375
Метилен хлористый (дихлорметан), квалификации хч	ГОСТ 12794—80
Натрия сульфат безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), квалификации ч	ГОСТ 22300—76
Оксид алюминия 90 (0,063—0,2 мм) для колоночной хроматографии, нейтральный («Мерк», Германия) I степени активности	

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Гомогенизатор «Omni-mixer» («Sorvall», США) или гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма «Branson Instr. Co.» (США)	
Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Вата медицинская	ТУ 9393-001-00302238
Воронки делительные, вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки конусные диаметром 30—37 мм	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 50, 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колонка кварцевая капиллярная ZB-1, длиной 20 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза SE-30, фирма «Phenomenex» (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)	
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
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Колба Бунзена, вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82

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 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 260 °С;

Температура детектора 300 °С;

Режим программирования температуры колонки

Начальная температура 150 °С (2 мин), скорость подъёма температуры до 230 °С (0 мин) 20 °С/мин;

от 2 300 °С до 240 °С (4 мин), скорость подъёма температуры 3°/мин;

от 240 °С до 270 °С (20—30 мин), скорость подъёма температуры 20 °С/мин.

Расход газов:
газа-носителя (гелий, азот) 2,2 $см^3$/мин;
водорода к ТИД 12,2 $см^3$/мин;
воздуха к ТИД 200 $см^3$/мин;
Деление потока 1 : 1;
Объем вводимой пробы 1 $мм^3$.
Время удерживания протиоконазол-дестио 7 мин 20 с ± 0,2 мин
Линейный диапазон детектирования 0,1—2,0 нг.

8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), 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. 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 вы-

ливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 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 промывают 15 см^3 гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.3. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания протиоконазол-дестио из колонки с оксидом алюминия

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

Готовят раствор гексан–этилацетат (85 : 15, по объему). Для этого в мерную колбу вместимостью 500 см^3 вносят 75 см^3 этилацетата и доводят объем раствора до метки гексаном. Срок хранения раствора – 1 неделя.

Готовят раствор гексан–этилацетат (7 : 3, по объему). Для этого в мерную колбу вместимостью 500 см^3 вносят 150 см^3 этилацетата и доводят объем раствора до метки гексаном. Срок хранения раствора – 1 неделя.

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 в этилацетате (8.5.2) и отдувают растворитель током теплого воздуха. Остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную по 8.2. Промывают колонку 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 40 см^3 смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему), отбирая последовательно по 10 см^3 элюата. Каждую фракцию упаривают, остатки растворяют в 1 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, а затем хроматографируют. Условия хромтографирования – в соответствии с 7.2.

По результатам обнаружения протиоконазол-дестио в каждой из фракций определяют объем элюента, необходимого для полного вымывания протиоконазол-дестио из колонки.

8.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку ZB-1 (типа SE-30) 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.

8.5. Приготовление градуировочных растворов

8.5.1. Исходный градуировочный раствор протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г протиоконазол-дестио, растворяют в 40—50 $см^3$ этилацетата, доводят этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают.

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

8.5.2. Градуировочный раствор протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного градуировочного раствора протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$ (8.5.1), разбавляют этилацетатом 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.

8.5.3. Градуировочные растворы протиоконазол-дестио 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 протиоконазол-дестио с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (8.5.2), доводят объем раствора до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 2—5 с массовой концентрацией протиоконазол-дестио 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мкг/$см^3$, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.6. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ · с) от массовой концентрации протиоконазол-дестио в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (8.5.3) 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*.

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 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)

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

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика протиоконазол-дестио 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 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и ГОСТ 8988—77 «Масло рапсовое. ТУ».

Пробы зеленой массы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более одного дня; для длительного хранения про-

бы замораживают и хранят при температуре –18 °С до анализа. Пробы семян высушивают до влажности (в соответствии ГОСТ 10852—86) и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу. Пробы масла хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4 °С. В некоторых случаях масло получают из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

9.1. Экстракция протиоконазол-дестио

9.1.1. Экстракция протиоконазол-дестио из зеленой массы

Приготовление водного раствора ацетона (8 : 2, по объему)

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 400 см^3 ацетона и доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора 1 неделя.

Образец измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетон–вода (8 : 2, 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. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 смеси ацетон–вода (8 : 2, по объему). 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.

9.1.2. Экстракция протиоконазол-дестио из семян

Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания на 1 ч. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 25 см^3 ацетонитрила. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и ½ его часть (эквивалентную 5 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 10 см^3 гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После расслоения фаз гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию переносят в круглодонную колбу, куда приливают 20 см^3 деионизованной воды. Дальнейшую очистку экстракта проводят по 9.2.

9.1.3. Экстракция протиоконазол-дестио из масла

К образцу масла массой 5 г, помещенного в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 10 см^3 гексана и перемешивают. К раствору добавляют 50 см^3 ацетонитрила и колбу помещают на встряхиватель на 30 мин. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 через слой ваты, помещенной в конусную воронку. К оставшемуся в колбе маслу приливают 30 см^3 ацетонитрила и операцию экстракции повторяют. После декантации ацетонитрильного слоя вату промывают 10 см^3 ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. Объединенную ацетонитрильную фазу переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, добавляют 10 см^3 гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После расслоения фаз гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию фильтруют через слой ваты, помещенный в конусную воронку, в круглодонную колбу. Содержимое колбы упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по 9.3.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Отобранные аликвоты экстрактов зеленой массы и семян, полученные по 9.1.1 и 9.1.2 и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (4—6 см^3) при температуре не выше 40 °С. К водному остатку добавляют 20 см^3 деионизованной воды, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 30 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний 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 хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С и подвергают дополнительной очистке на колонке с оксидом алюминия по 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Остаток в круглодонной колбе, полученный по 9.1.3 и 9.2, растворяют в 2 см^3 смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по 8.2. Колбу обмывают 2 см^3 смеси гексан–этилацетат (85 : 15,

по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 20 см^3 смеси гексан–этилацетат (85 : 15, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Протиоконазол-дестио элюируют с колонки 15 см^3 смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему) при анализе экстракта масла и 25 см^3 этой же смеси при анализе экстрактов семян и зеленой массы, собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. Остаток экстракта зеленой массы растворяют в 2,5 см^3, а семян и масла в 1 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют растворы на содержание протиоконазол-дестио. Условия хроматографирования по 7.2.

Полнота извлечения протиоконазол-дестио при проведении всех операций подготовки пробы не менее 82 %.

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.

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 «Хроматэк Аналитик», версия 1.20.

Альтернативная обработка результатов.

Массовую долю протиоконазол-дестио X, млн$^{-1}$, в семенах, масле и зеленой массе рапса рассчитывают по формуле (2)

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot V}{0{,}82 \cdot S_0 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

S_1 – площадь пика протиоконазол-дестио в образце, мВ · с;

S_0 – площадь пика в градуировочном растворе, мВ · с;

A – массовая концентрация градуировочного раствора протиоконазол-дестио, 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.

При расчете содержания протиоконазол-дестио в эквивалентах протиоконазола полученное значение X умножают на 1,1.

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 протиоконазол-дестио, млн$^{-1}$ (мг/кг);

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$^{-1}$ (мг/кг);

$\pm \delta$ – 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 протиоконазол-дестио в семенах менее 0,02 млн$^{-1}$ (более 0,2 млн$^{-1}$)*»;

«*массовая доля протиоконазол-дестио в масле менее 0,02 млн$^{-1}$ (более 0,2 млн$^{-1}$)*»;

«*массовая доля протиоконазол-дестио в зеленой массе менее 0,05 млн$^{-1}$ (более 0,5 млн$^{-1}$)*»;

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал протиоконазол-дестио, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют этилацетатом, но не более чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой. При расчёте содержания протиоконазол-дестио 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 протиоконазол-дестио, 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