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 тиаклоприда в зеленой массе, семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

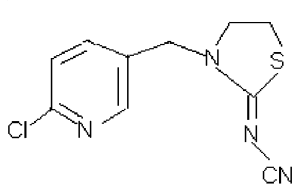
Методические указания
МУК 4.1.2676—10

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой доли тиаклоприда в зеленой массе и масле рапса в диапазоне (0,1—1,0) млн$^{-1}$ (мг/кг), в семенах рапса в диапазоне (0,05—0,5) млн$^{-1}$ (мг/кг), в ягодах винограда в диапазоне (0,02—0,2) млн$^{-1}$ (мг/кг), в виноградном соке в диапазоне (0,01—0,1) млн$^{-1}$ (мг/кг) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Название вещества по ИСО: Тиаклоприд

Название вещества по ИЮПАК: (Z)-3-(6-хлор-3-пиридилметил)-1,3-тиазолидин-2-илиденцианамид



$C_{10}H_9ClN_4S$
Мол. масса: 252,7

Кристаллическое вещество желтоватого цвета без запаха. Температура плавления: 136 °С. Давление паров при 20 °С: 3×10^{-7} мПа. Коэффициент распределения н-октанол-вода: K_{ow} log P = 1,25. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – 64, ацетонитрил – 52, дихлорметан – 150, 2-пропанол – 3, гептан – менее 0,1, вода – 0,185.

Вещество устойчиво к гидролизу и относительно стабильно на свету (DT_{50} = > 100 дней).

Тиаклоприд относительно слабо передвигается по почвенному профилю и достаточно быстро разрушается в почве в аэробных условиях (DT_{50} = 7—21 день).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – (440—840) млн$^{-1}$ (мг/кг); острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая ингаляционная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1 223—2 535 мг/м^3 воздуха. Тиаклоприд не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика. LC_{50} для рыб 30,5 мг/дм^3 (96 ч). Инсектицид практически нетоксичен для птиц, пчел, земляных червей, водорослей.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,002 млн$^{-1}$ (мг/кг) массы тела человека; МДУ в семенах и масле рапса – 0,1 млн$^{-1}$ (мг/кг), в ягодах и соке винограда – 0,05 млн$^{-1}$ (мг/кг).

Область применения

Тиаклоприд – инсектицид нервно-паралитического действия, эффективно уничтожает тлю, цветоеда, минеров, трипсов, плодожорку, колорадского жука на хлопчатнике, табаке, картофеле, рисе, овощных культурах, цитрусовых, косточковых и семечковых плодовых в течение вегетационного периода.

Применяется в России в качестве инсектицида для обработки яблоневых садов при норме расхода до 200 г д.в./га и одно-двукратной обработке за сезон.

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 тиаклоприда, 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, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$) $P = 0,95$
Ягоды винограда	От 0,020 до 0,10 вкл.	40	8	12	22	29
	Св. 0,10 до 0,20 вкл.	23	4	6	11	15
Сок винограда	От 0,010 до 0,05 вкл.	45	12	18	33	44
	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	28	6	9	17	22
Зеленая масса	От 0,10 до 0,5 вкл.	60	12	18	33	44
	Св. 0,5 до 1,0 вкл.	38	6	9	17	22
Семена рапса	От 0,05 до 0,10 вкл.	50	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	40	6	9	17	22
Масло рапса	От 0,10 до 0,5 вкл.	62	14	21	39	51
	Св. 0,5 до 1,0 вкл.	30	7	11	19	27

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции тиаклоприда из зеленой массы рапса и ягод винограда раствором водного ацетона, из семян и масла рапса раствором ацетонитрила, из сока винограда раствором хлористого метилена, очистке экстрактов, содержащих тиаклоприд, от коэкстрактивных компонентов перераспределением их в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем, с последующим измерением содержания тиаклоприда 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)	
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
Иономер универсальный ЭВ-74 или аналогичный	ГОСТ 22261—91
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа, вместимостью (20—100) $мм^3$, модель Microliter # 1710 («Hamilton»,США)	

4.2. Реактивы

Аналитический стандарт тиаклоприда с содержанием основного вещества 99,7 % (Байер, Германия)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для хроматографии, квалификации хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан	ТУ 6-09-3375
Метилен хлористый (дихлорметан), квалификации хч	ГОСТ 12794—80
Натрия хлорид, квалификации хч	ГОСТ 4233—77
Натрия сульфат безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—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)	
Вата медицинская	ТУ 9393-001-00302238
Воронки делительные, вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки конусные диаметром 30—37 мм	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 10, 50, 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 В-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 или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678—77
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236—79
Центрифуга Т-23 (Janetzki, Германия) или аналогичная	
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

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 жидкостном 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 колонки: 27 °С

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (45 : 55)

Скорость потока элюента: 0,5 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 242 нм

Чувствительность детектора: 0,002 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 5 $мм^3$

Время удерживания тиаклоприда: 5,7 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, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, градуировка хроматографа, подготовка колонки с силикагелем.

8.1. Очистка органических растворителей и приготовление растворов

8.1.1. Очистка ацетонитрила

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

8.1.2. Очистка н-гексана

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

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).

8.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель 60 (0,063—0,2 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 и затем высушивают при температуре 130° в течение 5 часов.

8.1.5 Приготовление раствора ацетон–вода (9 : 1 по объёму)

В мерный цилиндр вместимостью 500 см^3 помещают 50 см^3 бидистиллированной воды, а затем доводят объем раствора до метки ацетоном, подготовленным по 8.1.3.

Срок хранения раствора – 1 неделя.

8.1.6. Приготовление раствора ацетонитрил–вода (9 : 1 по объёму)

В мерный цилиндр вместимостью 500 см^3 помещают 50 см^3 бидистиллированной воды, а затем доводят объем раствора до метки ацетонитрилом, подготовленным по 8.1.1.

Срок хранения раствора – 3 недели.

8.1.7. Приготовление насыщенного раствора хлорида натрия

В коническую колбу вместимостью 200 $см^3$ вносят навеску (50 ± 2) г хлорида натрия, приливают (100 ± 2) $см^3$ бидистиллированной воды, перемешивают в течение 5 мин, полученный раствор фильтруют. Фильтрат является насыщенным раствором хлорида натрия. Срок годности раствора – 1 неделя.

8.2. 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 2 г силикагеля в 20 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 0,5 см. Колонку промывают 30 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.3. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания тиаклоприда из колонки с силикагелем

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

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора № 1 тиаклоприда с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ в ацетонитриле и отдувают растворитель током азота. Остаток растворяют в 0,6 $см^3$ ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, добавляют 2,4 $см^3$ гексана, перемешивают и вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по 8.2. Промывают колонку 50 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Затем колонку промывают 50 $см^3$ смеси гексан–ацетон (7 : 3, по объему), отбирая последовательно по 5 $см^3$ раствора. Каждую фракцию упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 1 $см^3$ подвижной фазы, подготовленной по 8.4, перемешивают, а затем анализируют на содержание тиаклоприда. Условия хроматографирования – в соответствии с 7.2.

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

8.4. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 450 см^3 ацетонитрила, 550 см^3 деионизованной воды, раствор перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр, дегазируют.

8.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Хроматографическую колонку Symmetry C18 устанавливают в термостат хроматографа и стабилизируют при температуре 27 °С и скорости потока подвижной фазой 0,5 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).

8.6. Приготовление градуировочных растворов

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

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

Раствор хранят в морозильной камере при температуре (–18) °С в течение 2-х месяцев.

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

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного градуировочного раствора тиаклоприда с массовой концентрацией 100 мкг/см^3 (8.6.1), 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.

8.6.3. Градуировочные растворы тиаклоприда с массовой концентрацией (0,02—0,2) 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 тиаклоприда с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (8.6.2), доводят объем до метки подвижной фазой, приготовленной по 8.4, тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 2—5 с массовой концентрацией тиаклоприда 0,02, 0,04, 0,1 и 0,2 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.7. Градуировка хроматографа

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

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют при условиях 7.2. Каждый раствор хроматографируют дважды. 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)

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

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика тиаклоприда 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 10851—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 8988—77 «Масло рапсовое. ТУ», ГОСТ 25896—83 «Виноград свежий столовый», ГОСТ 25892—83Е «Сок виноградный. ТУ».

Пробы зеленой массы и ягод хранят в полиэтиленовой таре в холодильнике не более 1 дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре (–18) °С. Пробы семян подсушивают до влажности (в соответствии ГОСТ 10852—86) и хранят в бумажных или тканевых мешочках в хорошо проветриваемом шкафу. Масло хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре (0—4) °С. В некоторых случаях масло получают из семян экстракцией органическими неполярными растворителями. Сок получают из ягод непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом ягоды измельчают, семена размалывают на мельнице, зеленую массу измельчают ножницами.

9.1. Экстракция тиаклоприда

9.1.1. Экстракция тиаклоприда из образцов зеленой массы

Образец измельченной ткани массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетон–вода (9 : 1, по объему), перемешивают и колбу помещают на встряхиватель на 30 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Растительный материал повторно экстрагируют 50 см^3 указанной выше смеси в течение 30 минут при встряхивании и суспензию фильтруют. Аликвоту объединенного фильтрата, эквивалентную 2 г растительной ткани, переносят в круглодонную колбу вместимостью 50 см^3 и упаривают до водного остатка (~ 1 см^3) на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. К водному остатку добавляют 30 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия и проводят очистку экстракта по 9.2.

9.1.2. Экстракция тиаклоприда из семян

Навеску размолотых семян массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетонитрил–вода (9 : 1, по объему), перемешивают и колбу помещают на встряхиватель на 30 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Растительный материал повторно экстрагируют 50 см^3 указанной выше смеси в течение 30 минут при встряхивании и суспензию фильтруют. Аликвоту объединенного фильтрата, эквивалентную 2 г растительного материала, переносят в круглодонную колбу вместимостью 50 см^3, до-

бавляют 10 см^3 бидистиллированной воды и упаривают до водного остатка (~ 3—5 см^3) на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. К водному остатку добавляют 30 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 20 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, а водную фазу повторно обрабатывают 20 см^3 гексана. Дальнейшую очистку экстракта проводят по 9.2.

9.1.3. Экстракция тиаклоприда из масла

Образец масла массой 10 г вносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, добавляют 30 см^3 ацетонитрила и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз переносят ацетонитрильный слой в центрифужную пробирку, а маслянистый остаток еще дважды обрабатывают 25 см^3 ацетонитрила. Объединенный ацетонитрильный экстракт центрифугируют при 6 000 об./мин в течение 10 минут и супернатант декантируют. Аликвоту супернатанта, эквивалентную 2 г масла, переносят в круглодонную колбу вместимостью 50 см^3, приливают 10 см^3 бидистиллированной воды и образец упаривают до водного остатка (~ 3—5 см^3) на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. К водному остатку добавляют 30 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия и раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку приливают 20 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, а водную фазу повторно обрабатывают 20 см^3 гексана. Далее проводят очистку экстракта по 9.2.

9.1.4. Экстракция тиаклоприда из ягод

Навеску измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, приливают 100 см^3 смеси ацетон–вода (9 : 1, по объему) и гомогенизируют 3 минуты при 10 000 об./мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Остаток на фильтре промывают 50 см^3 указанной выше смеси. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан вместимостью 500 см^3, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/10 его часть, эквивалентную 2 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают до водного остатка (~ 1 см^3) на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. К водному остатку добавляют 30 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия и проводят очистку экстракта по 9.2.

9.1.5. Экстракция тиаклоприда из сока

Навеску (10 г) свежевыжатого сока помещают в химический стакан вместимостью 100 см^3, приливают 30 см^3 бидистиллированной воды, 60 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают 1/5 объема раствора, эквивалентного 2 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Дальнейшую очистку экстракта проводят по 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водные экстракты, полученные по (9.1.1—9.1.5), переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, приливают 25 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 20 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую фракцию, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по 9.3.

9.3 Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по 9.2, растворяют в 0,6 см^3 ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, добавляют 2,4 см^3 гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по 8.2. Колбу обмывают 5 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 40 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Тиаклоприд элюируют с колонки 45 см^3 смеси гексан–ацетон (7 : 3, по объему), отбрасывая первые 5 см^3 элюата и собирая последующие 40 см^3 непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Сухой остаток экстракта сока винограда растворяют в 1 см^3, ягод винограда в 2 см^3, семян рапса в 5 см^3, зеленой массы и масла рапса в 10 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ, подготовленной по 8.4, раствор помещают в ультразвуковую ванну на 1 минуту и анализируют на содержание тиаклоприда по 10.

Полнота извлечения тиаклоприда при проведении всех операций подготовки пробы не менее 83 %.

10. Выполнение измерений

10.1. В инжектор хроматографа вводят 5 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 зеленой массы, ягод винограда, сока винограда, семян рапса, масла рапса 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 «МультиХром для Windows», версия 1.5х.

Альтернативная обработка результатов.

Массовую долю тиаклоприда X, млн$^{-1}$, в ягодах винограда, соке винограда, зеленой массе, семенах рапса, масле рапса рассчитывают по формуле (2)

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot V}{0{,}83 \cdot S_0 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

S_1 – площадь пика тиаклоприда в образце, мкВ · с;

S_0 – площадь пика тиаклоприда в градуировочном растворе, мкВ · с;

A – массовая концентрация градуировочного раствора тиаклоприда, 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 силикагелем 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 тиаклоприда, 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 тиаклоприда в зеленой массе менее 0,1 млн$^{-1}$ (более 1,0 млн$^{-1}$)*»;

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

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

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

«*массовая доля тиаклоприда в ягодах винограда менее 0,02 млн$^{-1}$ (более 0,2 млн$^{-1}$)*";

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

Назарова Т. А., науч. сотр., Микитюк О. Д., ст. науч. сотр., Макеев А. М., зав. лаб. (ГНУ ВНИИ фитопатологии, 143050, Московская обл., п/о Большие Вяземы).

gost.e-ecolog.ru