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

Определение остаточных количеств клотианидина в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса, ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

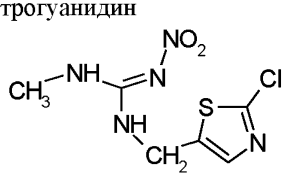
Методические указания
МУК 4.1.2668—10

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений содержания клотианидина в воде в диапазоне (0,001—0,01) мг/дм^3, в почве в диапазоне (0,01—0,1) млн$^{-1}$ (мг/кг), в семенах рапса в диапазоне (0,02—0,2) млн$^{-1}$ (мг/кг), в ботве и корнеплодах сахарной свеклы, зеленой массе и масле рапса в диапазоне (0,05—0,5) млн$^{-1}$ (мг/кг) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Название вещества по ИСО: Клотианидин

Название вещества по ИЮПАК: (E)-1-(2-хлор-1,3-тиазол-5-илметил)-3-метил-2-нитрогуанидин



$C_6H_8ClN_5O_2S$
Мол. масса: 249,7

Бесцветный порошок без запаха. Температура плавления: 176,8 °С. Давление паров при 25 °С: $1,3 \times 10^{-7}$ мПа. Коэффициент распределения в системе н-октанол/вода: K_{OW} log $P = 0,7$ (при 25 °С). Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – 15,2; метанол – 6,26; этилацетат – 2,03; дихлорметан – 1,32; гептан – 0,001; вода – 0,327.

В почве в аэробных условиях клотианидин разрушается очень медленно: DT_{50} = 148—1 155 дней.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 5 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 2 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – > 6 141 мг/м^3 воздуха. Клотианидин не оказывает раздражающего действия на кожу кролика. LC_{50} для рыб – >100 мг/дм^3 (96 ч).

Инсектицид нетоксичен для птиц, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов и опасен для пчел при прямом контакте.

Гигиенические нормативы для клотианидина в России:

ПДК в воде – 0,5 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,1 млн$^{-1}$ (мг/кг); МДУ в семенах рапса – 0,04 млн$^{-1}$ (мг/кг), корнеплодах сахарной свеклы – 0,5 млн$^{-1}$ (мг/кг), масле рапса – 0,1 млн$^{-1}$ (мг/кг).

Область применения

Клотианидин – инсектицид нервно-паралитического действия, обладает широким спектром активности против сосущих, грызущих и почвенных насекомых на овощных культурах, фруктовых и цитрусовых деревьях, рисе, кукурузе и рапсе. Вещество обладает системной активностью и может использоваться как в качестве протравителя, так и для обработки почвы и надземных органов растений.

Применяется в России в качестве инсектицида для предпосевного протравливания семян сахарной свеклы и рапса при норме расхода 20 и 10 кг д.в./т семян, соответственно, а также в качестве составного компонента комбинированных протравителей.

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 клотианидина, млн$^{-1}$	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)	60	15	22	42	53
	Св. 0,005 до 0,010 вкл. (мг/дм^3)	55	12	16	33	38
Почва	От 0,010 до 0,05 вкл.	60	15	22	42	53
	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	56	9	18	25	47
Зеленая масса рапса	От 0,05 до 0,10 вкл.	57	13	20	36	49
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	35	8	12	22	29
Семена рапса	От 0,020 до 0,10 вкл.	47	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,20 вкл.	29	6	11	17	28
Масло рапса	От 0,05 до 0,10 вкл.	50	12	21	33	53
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	25	7	11	19	27
Ботва сахарной свеклы	От 0,05 до 0,10 вкл.	48	14	21	39	51
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	30	10	15	28	37
Корнеплоды сахарной свеклы	От 0,05 до 0,10 вкл.	58	16	24	44	59
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	30	9	14	25	35

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции клотианидина из воды хлористым метиленом, из почвы и масла рапса водным раствором метанола, из ботвы и корнеплодов сахарной свеклы, зеленой массы и семян рапса водным ацетоном, очистке экстрактов, содержащих клотианидин, от коэкстрактивных компонентов перераспределением их в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с флоризилом, с последующим измерением содержания клотианидина 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 с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирма «Knauer», Германия)	Номер Госреестра 16848-03
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 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 жидкостного хроматографа, вместимостью 100 мм^3, модель Microliter # 1710 («Hamilton»,США)	
Клотианидин, с содержанием основного вещества 99,4 % (Байер, Германия)	

4.2. Реактивы

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, квалификации хч	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый, квалификации хч	ГОСТ 4221—76
Метилен хлористый (дихлорметан), квалификации хч	ГОСТ 12794—80
Метиловый спирт (метанол), квалификации хч	ГОСТ 6995—77
Натрий сернокислый, безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты, 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)	
Вата медицинская	ТУ 9393-001-00302238
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные, вместимостью 100, 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки конусные диаметром 30—37 мм	ГОСТ 25336—82
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505—65
Колба Бунзена, вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные, вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Колонка хроматографическая, стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм), (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва)	ТУ 4215-001-05451931—94
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696—75
Ротационный вакуумный испаритель или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы «Buchi» (Швейцария)	ИР-1МТУ 25-11-917—76
Флоризил для колоночной хроматографии с размером частиц 30—60 меш («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

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.

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: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (20 : 80, по объему)

Скорость потока элюента: 0,7 $см^3$/мин

Время удерживания клотианидина: 9,2 мин
Рабочая длина волны: 270 нм
Чувствительность: 0,01 ед. абсорбции на шкалу
Объем вводимой пробы: 20 мм^3
Линейный диапазон детектирования 1—10 нг

8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: приготовление растворов, приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ, подготовка колонки с флоризилом, кондиционирование хроматографической колонки, градуировка хроматографа.

8.1. Приготовление раствора углекислого калия с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 6,9 г K_2CO_3, приливают 100 см^3 деионизованной воды, перемешивают до растворения осадка, доводят объем водой до метки, перемешивают.

Срок хранения – 1 неделя.

8.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 200 см^3 ацетонитрила, 800 см^3 деионизованной воды, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

Срок хранения – 1 неделя.

8.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой, приготовленной по 8.2, при скорости подачи растворителя 1 см^3/мин не менее часа.

8.4. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм помещают тампон из стекловаты и затем в нее выливают суспензию 10 г флоризила в 10 см^3 этилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 см^3 этилацетата со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.5. Определение объёма элюента, необходимого для полного вымывания клотианидина из колонки с флоризилом

При отработке методики или поступлении новой партии флоризила проводят определение объёма элюента, необходимого для полного вымывания клотианидина из колонки с флоризилом.

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,2 см^3 градуировочного раствора № 1 клотианидина с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 в ацетонитриле, раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по 8.4. Промывают колонку 40 см^3 этилацетата со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 40 см^3 ацетонитрила, отбирая последовательно по 5 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 8.2, перемешивают, а затем хроматографируют. Условия хромтографирования – в соответствии с 7.2.

По результатам обнаружения клотианидина в каждой из фракций определяют объем ацетонитрила, необходимый для полного вымывания клотианидина с колонки.

8.6. Приготовление градуировочных растворов

8.6.1 Приготовление исходного раствора клотианидина для градуировки с массовой концентрацией 100 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,010 ± 0,0002) г клотианидина, растворяют в (40—50) см^3 ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

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

8.6.2. Приготовление раствора клотианидина для градуировки с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (раствор № 1)

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

Для приготовления проб воды, почвы, зеленой массы, семян, ботвы, корнеплодов и масла с внесением при оценке полноты извлечения клотианидина из исследуемых образцов используют ацетоновые растворы клотианидина с массовой концентрацией 1 и 10 мкг/см^3.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновые растворы клотианидина хранят в морозильной камере при температуре не выше (–18) °С. Срок хранения не более 1 месяца.

8.6.3 Приготовление градуировочных растворов клотианидина с массовой концентрацией 0,05—0,5 мкг/см^3 (растворы № 2—5)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 0,5, 1,0, 2,5 и 5,0 см^3 градуировочного раствора № 1 клотианидина с массовой концентрацией 10 мкг/см^3, доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по 8.2, тщательно перемешивают. Получают растворы с массовой концентрацией клотианидина 0,05, 0.10, 0,25 и 0,5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.7. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мм^2) от массовой концентрации клотианидина в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4-м растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора (8.6.3) 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.

8.8. 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)

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

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика клотианидина 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», 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», 8988—77 «Масло рапсовое. ТУ», 17421—82 «Свекла сахарная для промышленной переработки. Требования при заготовках».

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 часов 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, ботвы и корнеплодов хранят в холодильнике при температуре (0—4) °С не более суток; для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре (–18) °С.

Пробы семян подсушивают при комнатной температуре 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. Допускается получение масла из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями.

Перед анализом образцы воды фильтруют через бумажный фильтр, образцы почвы просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм, семена размалывают на мельнице, а ботву и корнеплоды измельчают ножницами, ножом или с помощью терки.

9.1. Экстракция клотианидина

9.1.1. Экстракция клотианидина из образцов воды

100 $см^3$ предварительно отфильтрованной воды помещают в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 30 $см^3$ хлористого метилена и интенсивно встряхивают воронку в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу. Водную фазу экстрагируют хлористым метиленом еще дважды порциями по 30 $см^3$. Объединенную дихлорметановую фракцию упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Далее проводят очистку экстракта от коэкстрактивных примесей по 9.3.

9.1.2. Экстракция клотианидина из образцов почвы

Образец воздушно-сухой почвы массой 25 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 125 $см^3$ смеси метанол–вода (9 : 1, по объему), перемешивают и колбу помещают на встряхиватель на 1 час. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 $см^3$. Почву повторно экстрагируют 75 $см^3$ указанной выше смесью в течение 30 минут при встряхивании и фильтруют. Осадок на фильтре промывают 50 $см^3$ метанола. Экстракты и промывную жидкость объединяют, измеряют объем раствора и 1/5 часть экстракта (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу. Дальнейшую очистку экстракта от коэкстрактивных примесей проводят по 9.2.

9.1.3. Экстракция клотианидина из образцов зеленой массы, ботвы, корнеплодов

Навеску (25 г) измельченного растительного материала помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 $см^3$, приливают 125 $см^3$ смеси ацетон–вода (3 : 1, по объему) и гомогенизируют 3 минуты при 8 000 об./мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 $см^3$. Осадок на фильтре промывают 50 $см^3$ смеси ацетон–вода (3 : 1). Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/5 его часть (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Дальнейшую очистку экстракта от коэкстрактивных примесей проводят по 9.2.

9.1.4. Экстракция клотианидина из образцов семян

Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ смеси ацетон–вода

(3 : 1, по объему) и колбу помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 $см^3$. Осадок на фильтре промывают 50 $см^3$ приведенной выше смеси. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/2 его часть (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Дальнейшую очистку экстракта от коэкстрактивных примесей проводят по 9.2.

9.1.5. Экстракция клотианидина из образцов масла

Образец масла массой 5 г вносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, добавляют 15 $см^3$ гексана, перемешивают. К раствору добавляют 50 $см^3$ 80 %-го водного метанола и воронку интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз декантируют водно-метанольный слой в круглодонную колбу через слой ваты, помещенной в конусную воронку. Маслянистый остаток повторно обрабатывают 50 $см^3$ 80 %-го водного метанола и водно-метанольные экстракты объединяют. Дальнейшую очистку экстракта от коэкстрактивных примесей проводят по 9.2.

Приготовление водного раствора метанола с массовой долей 80 %.

В мерную колбу вместимостью 500 $см^3$ количественно переносят 400 $см^3$ метанола. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения – 1 неделя.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Отобранные аликвоты экстрактов почвы и растительного материала (9.1.2, 9.1.3 и 9.1.4), а также экстракт масла (9.1.5) упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка объемом 3—5 $см^3$ при температуре 40 °С. К водному остатку приливают 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-х минут. После разделения фаз нижний органический слой собирают в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, а водную фазу экстрагируют еще дважды, используя по 30 $см^3$ хлористого метилена. К объединенной дихлорметановой фракции в делительной воронке приливают 25 $см^3$ водного раствора углекислого калия с молярной концентрацией 0,05 моль/$дм^3$, содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круг-

лодонную колбу и затем упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Сухие остатки в круглодонной колбе, полученные по 9.1.1 и 9.2, растворяют в 3 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 минуту. Раствор наносят на колонку, подготовленную по 8.4. Колбу обмывают 5 $см^3$ этилацетата, раствор этилацетата также наносят на колонку. Колонку промывают 35 $см^3$ этилацетата со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Клотианидин элюируют с колонки 25 $см^3$ ацетонитрила непосредственно в грушевидную колбу. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. Сухой остаток экстракта почвы растворяют в 1 $см^3$, воды и семян рапса в 2 $см^3$, а ботвы и корнеплодов сахарной свеклы, зеленой массы и масла рапса в 5 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ, раствор помещают в ультразвуковую ванну на 1 минуту и анализируют на содержание клотианидина по 10.

Полнота извлечения клотианидина при проведении всех операций подготовки пробы не менее 84 %.

10. Выполнение измерений

10.1. В инжектор хроматографа вводят 20 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (9.1.1—9.1.5), анализируют при условиях (7.2) и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждого образца воды, почвы, зеленой массы рапса, ботвы и корнеплодов сахарной свеклы, семян и 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.

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

Массовую концентрацию клотианидина X, мг/$дм^3$, в образцах воды рассчитывают по формуле (2)

$$X = \frac{\tilde{N} \cdot V_{\acute{y}\hat{e}\tilde{n}\grave{o}\,\partial}}{0,84 \cdot V_{\grave{a}\ddot{i}\,\grave{a}\ddot{i}}}, \qquad (2)$$

Массовую долю клотианидина X, млн$^{-1}$, в образцах почвы, зеленой массы рапса, ботвы, корнеплодов сахарной свеклы, семян рапса, масла рапса рассчитывают по формуле (3)

$$X = \frac{\tilde{N} \cdot V_{\acute{y}\hat{e}\tilde{n}\grave{o}\,\partial}}{0,84 \cdot m}, \text{ где} \qquad (3)$$

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

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

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

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

0,84 – коэффициент извлечения клотианидина, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой концентрации (доли), 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$^{-1}$).

± δ – 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 клотианидина в воде менее 0,001 мг/дм^3 (более 0,01 мг/дм^3)»;

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

«массовая доля клотианидина в семенах рапса менее 0,02 млн$^{-1}$ (более 0,2 млн$^{-1}$)»;

«массовая доля клотианидина в зеленой массе и масле рапса, ботве и корнеплодах сахарной свеклы менее 0,05 млн$^{-1}$ (более 0,5 млн$^{-1}$)»;

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал клотианидина, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,5 мкг/см^3, разбавляют, но не более чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой. При расчёте содержания клотианидина 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)

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

$C_{ср1}$, $C_{ср2}$ – средние значения массовой концентрации (доли), полученные в первой и второй лабораториях, мг/дм^3 (млн$^{-1}$).

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

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

Талалакина Т. Н., науч. сотр; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук (ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20).

gost.e-ecolog.ru