Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств металаксила в зерне, масле и зеленой массе кукурузы, зерне и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3327—15

Издание официальное

Москва • 2016

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств металаксила в зерне, масле и зеленой массе кукурузы, зерне и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3327—15

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств металаксила в зерне, масле и зеленой массе кукурузы, зерне и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—20 с.

ISBN 978—5—7508—1477—0

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии» (Л. В. Дубовая, А. М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 17 декабря 2015 г. № 2).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 28 декабря 2015 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редакторы Н. В. Кожока, Ю. А. Паршина
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 30.08.16

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25

Тираж 125 экз. Заказ 60

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2016
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
28 декабря 2015 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств металаксила в зерне, масле и зеленой массе кукурузы, зерне и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3327—15

Свидетельство о метрологической аттестации от 17.07.2015 № РОСС RU.0001.310430/0237.17.07.15.

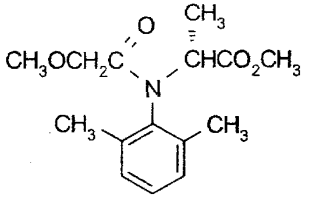
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения остаточных количеств металаксила в зерне, масле и зеленой массе кукурузы и сои в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: металаксил.

Название действующего вещества по ИЮПАК: метиловый эфир N-(2-метокси-ацетил)-N-(2,6-ксилил)-DL-аланина.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{21}NO_4$.
Молекулярная масса: 279,3.

Бесцветное кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления: 67,9 °С. Давление паров при 25 °С: 0,75 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 1,65. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: вода – 7,1; н-гексан – 9,1; бензол – 550; метанол – 650; дихлорметан – 750.

Вещество устойчиво к фотолизу и гидролизу в кислых и нейтральных условиях (DT_{50} > 200 дней), в щелочных условиях (pH 9) DT_{50} = 115 дней.

В биологически активных почвах в аэробных условиях металаксил разлагается со средним значением DT_{50} = 42—46 дней.

Краткая токсикологическая характеристика.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 633 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 3 100 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 3 600 мг/м^3 воздуха. LC_{50} для рыб > 100 мг/дм^3 (96 ч). Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел и дождевых червей.

Область применения препарата.

Металаксил – системный фунгицид защитного и искореняющего действия из класса фениламидов. Высокоэффективен против возбудителей фитофтороза картофеля и томатов, мильдью винограда, ложной мучнистой росы и корнееда овощных культур, сахарной свеклы и подсолнечника, увядания растений кукурузы.

Применяется в России в составе смесевых препаратов с фунгицидами защитного действия для двух-трехкратной обработки посевов овощных культур, картофеля и винограда в течение вегетационного периода с нормой расхода 0,1—0,2 кг д.в./га.

1. Погрешность измерений

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P = 0,95 не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для всего диапазона измерений (n = 20) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности, $P = 0,95$), $\pm\delta$, %	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, % ($P = 0,95$)
Зеленая масса кукурузы	0,05—0,5	50	2,9	4,1	8,1	11,5
Зерно кукурузы	0,05—0,5	50	2,7	3,8	7,6	10,6
Масло кукурузы	0,05—0,5	50	2,8	3,9	7,8	10,9
Зерно сои	0,05—0,5	50	2,8	3,9	7,8	10,9
Масло сои	0,05—0,5	50	3,0	4,2	8,4	11,8

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0.95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	средняя полнота извлечения, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Зеленая масса кукурузы	0,05	0,05—0,5	86,9	3,32	± 1,76
Зерно кукурузы	0,05	0,05—0,5	86,5	3,03	± 1,61
Масло кукурузы	0,05	0,05—0,5	85,9	2,98	± 1,59
Зерно сои	0,05	0,05—0,5	86,1	3,03	± 1,61
Масло сои	0,05	0,05—0,5	85,7	2,95	± 1,57

2. Метод измерений

Метод основан на определении металаксила с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии с термоионным детектором после экстракции его из зеленой массы водным ацетоном, из зерна и масла – ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с оксидом алюминия и концентрирующем патроне.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с термоионным детектором	
Весы аналитические с пределом взвешивания до 110 г и допустимой погрешностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные с пределом взвешивания до 160 г и допустимой погрешностью 0,005 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 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; 1-250; 1-500; 1-1000	ГОСТ 1770—74
Микрошприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1—10 $см^3$	ТУ 64-1-2850

Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Металаксил, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,0 %	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—05
Гелий газообразный, очищенный (или азот)	ТУ-0271-135-31323949—05
н-Гексан, хч	ТУ 2631-003-05807999—98

Железо сернокислое закисное, хч	ГОСТ 4148—78
Калия перманганат, хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328—77
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Натрий сернокислый безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрия хлорид, хч	ГОСТ 4233—77
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76
Эфир диэтиловый, чда	ТУ 2600-001-43852015—02

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Генератор водорода	
Гомогенизатор с металлическим стаканом вместимостью не менее 500 $см^3$ и скоростью вращения ножа не менее 10 000 об./мин	
Компрессор	
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236—79
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Колба Бунзена вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 50, 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с нанесенной пленкой из смеси 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм	

Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Оксид алюминия нейтральный для колоночной хроматографии с размером частиц 0,063—0,200 мм	
Патроны концентрирующие для твердофазной экстракции, 0,6 г гидрофильного нейтрального сорбента с привитыми диольными группами (патрон № 1)	ТУ 4215-002-05451931—94
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641—75)
Фильтры бумажные средней плотности	ТУ 6-09-1678-86
Шприц медицинский инъекционный однократного применения вместимостью 10 $см^3$	ГОСТ Р ИСО 7886-1—09

Примечание. Допускается использование вспомогательных средств измерений, устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 $кгс/см^2$), необходимо соблюдать «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576-03. Запреща-

ется открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа и уложившиеся в нормативы контроля.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;

• выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов и раствора внесения, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с оксидом алюминия, проверка хроматографического поведения металаксила на колонке.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. 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 калием углекислым.

7.1.2. Очистка ацетона.

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и калием углекислым (на 1 дм^3 ацетона – 10 г калия перманганата и 2 г калия углекислого).

7.1.3. Очистка диэтилового эфира.

Растворитель предварительно встряхивают со свежеприготовленным раствором железа серно-кислого закисного, а затем последовательно промывают 0,5 %-м раствором перманганата калия, 5 %-м раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлоридом кальция и перегоняют.

7.1.4. Хлористый метилен и этилацетат

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %.

Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого растворяют в конической колбе в 40—60 $см^3$ деионизованной воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем раствора до метки деионизованной водой. Срок хранения раствора – 1 неделя.

Хлористый метилен и этилацетат промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлорида кальция, сушат над безводным углекислым калием и перегоняют. Растворители хранят в темной посуде при комнатной температуре не более 14 дней.

7.2. Кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку 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.

7.3. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.3.1. Исходный градуировочный раствор металаксила с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г металаксила, растворяют в 40—50 $см^3$ этилацетата, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше 12 °С не более 3 месяцев.

7.3.2. Градуировочный раствор металаксила с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (раствор № 1). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного градуировочного раствора металаксила с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.3.1), доводят объем раствора до метки этилацетатом, тщательно перемешивают. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов № 2—5.

Для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения металаксила из исследуемых образцов используют ацетоновый раствор металаксила с концентрацией 5 мкг/$см^3$.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор металаксила хранят в морозильной камере при температуре не выше –12 °С не более месяца.

7.3.3. Градуировочные растворы металаксила с массовой концентрацией 0,2—2,0 мкг/см^3 (растворы № 2—5). В 4 мерные колбы вместимостью 50 см^3 помещают 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 металаксила с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.3.2), доводят до метки смесью гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией металаксила 0,2; 0,4; 1,0 и 2,0 мкг/см^3 соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.4. Установление градуировочной характеристики

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

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 7.3.3) и анализируют при условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

7.5. Приготовление смесей гексан–диэтиловый эфир для очистки экстрактов на колонке с оксидом алюминия

7.5.1. Смесь гексан–диэтиловый эфир (объемное соотношение 9 : 1). В мерную колбу вместимостью 250 см^3 помещают 25 см^3 диэтилового эфира, доводят до метки гексаном, перемешивают. Смесь готовят непосредственно перед использованием.

7.5.2. Смесь гексан–диэтиловый эфир (объемное соотношение 1 : 1). В мерную колбу вместимостью 250 см^3 помещают 125 см^3 диэтилового эфира, доводят до метки гексаном, перемешивают. Смесь готовят непосредственно перед использованием.

7.6. Подготовка колонки с оксидом алюминия и концентрирующего патрона № 1 для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 10 г оксида алюминия V степени активности в 15 см^3 гексана (оксид алюминия V степени активности по Брокману получают добавлением 15 % воды к оксиду алюминия I степени активности). Дают растворителю стечь до верхнего

края сорбента и помещают на него слой безводного сернокислого натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 $см^3$ гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон № 1 промывают сначала с помощью медицинского шприца 10 $см^3$ смеси гексан–ацетон (1 : 1, по объему), а затем 8 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему) со скоростью 5 $см^3$/мин.

7.7. Проверка хроматографического поведения металаксила на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,2 $см^3$ градуировочного раствора № 1 металаксила с концентрацией 10 мкг/$см^3$ в этилацетате (п. 7.3.2). Растворитель упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С, остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир в объемном соотношении 9 : 1, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную по п. 7.6. Промывают колонку 20 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир (9 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 40 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир в объемном соотношении 1 : 1, отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухие остатки растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание металаксила по п. 9.4.

По результатам обнаружения металаксила в каждой из фракций определяют объем смеси гексан–диэтиловый эфир (1 : 1, по объему), необходимый для полного вымывания металаксила из колонки.

Примечание. Проверку хроматографического поведения металаксила следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

7.8. Проверка хроматографического поведения металаксила на концентрирующем патроне № 1

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора № 1 металаксила с концентрацией 10 мкг/$см^3$ в этилацетате (п. 7.3.2). Растворитель упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С, остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на патрон № 1, подготовленный по п. 7.6 Промывают патрон 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему) со ско-

ростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через патрон пропускают 10 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), отбирая последвательно по 2 $см^3$ элюата непосредственно в круглодонные колбы. Растворы в колбах упаривают досуха при температуре не выше 40^0С, остатки растворяют в 1 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и растворы анализируют на содержание металаксила по п. 9.4.

По результатам обнаружения металаксила в каждой из фракций определяют объем смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), необходимый для полного вымывания металаксила из патрона.

Примечание. Профиль вымывания металаксила может меняться при использовании новых партий концентрирующих патронов и растворителей.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ 13634—90 «Кукуруза. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 8808—2000 «Масло кукурузное. Технические условия», ГОСТ Р 53510—2009 «Масло соевое. Технические условия» и «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79).

Образцы зеленой массы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более суток; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С до анализа. Пробы зерна высушивают до стандартной влажности 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 зерна масличных культур экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа. Перед проведением анализа зеленую массу измельчают, а зерно размалывают на мельнице.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция и очистка

Приготовление раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3 (0,1 М раствор). Растворяют (4 ± 0,1) г гидроксида

натрия в 70—100 см^3 деионизованной воды, затем раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 и доводят объем раствора до метки деионизованной водой. Раствор хранят при комнатной температуре не более 1 месяца.

9.1.1. *Зеленая масса кукурузы.* Измельченный образец 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 двойной бумажный фильтр средней плотности в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 смеси ацетон–вода (8 : 2, по объему). Объединенный фильтрат переносят в мерный цилиндр на 250 см^3, доводят общий объем раствора до 200 см^3 смесью ацетон–вода (8 : 2, по объему), перемешивают. Аликвоту раствора объемом 50 см^3, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 20 см^3 деионизованной воды и раствор упаривают до водного остатка (около 25 см^3) на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Колбу ополаскивают 10 см^3 деионизованной воды, которую также переносят в делительную воронку. В воронку вносят 30 см^3 хлористого метилена и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний дихлорметановый слой сливают в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 хлористого метилена. К объединенной дихлорметановой фракции, помещенной в делительную воронку, приливают 50 см^3 0,1 М раствора гидроксида натрия и смесь интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний дихлорметановый слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30 °С. Далее проводят очистку экстракта по пп. 9.2 и 9.3.

9.1.2. *Зерно кукурузы и сои.* Образец размолотого зерна массой 10 г вносят в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 75 см^3 ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания на 40 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 25 см^3 ацетонитрила. Аликвоту объединенного фильтрата, эквивалентную 5 г зерна, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и содержимое упаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С до маслянистого остатка. Остаток в колбе растворя-

ют в 15 см^3 гексана и раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Колбу ополаскивают 10 см^3 гексана, которые также переносят в делительную воронку. В воронку вносят 30 см^3 ацетонитрила и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз ацетонитрильный слой сливают в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Операцию экстракции гексановой фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 ацетонитрила. К объединенной ацетонитрильной фракции приливают 15 см^3 гексана и смесь интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз ацетонитрильный слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по пп. 9.2 и 9.3.

9.1.3. *Масло кукурузы и сои.* Образец масла массой 5 г вносят в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 50 см^3 ацетонитрила и колбу помещают на встряхиватель на 40 мин. Раствор помещают в морозильную камеру на 1 ч и ацетонитрильный слой декантируют в делительную воронку вместимостью 250 см^3 через слой ваты, помещенной в конусную воронку. Операцию экстракции масла повторяют еще раз, используя 30 см^3 ацетонитрила. После декантации ацетонитрильного слоя вату промывают 10 см^3 ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. К ацетонитрильной фракции в делительной воронке приливают 15 см^3 гексана и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После расслоения фаз гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию упаривают до маслянистого остатка на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Остаток в колбе растворяют в 15 см^3 гексана и раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Колбу ополаскивают 10 см^3 гексана, которые также переносят в делительную воронку. В воронку вносят 30 см^3 ацетонитрила и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз ацетонитрильный слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции гексановой фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 ацетонитрила. Объединенную ацетонитрильную фракцию упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2 и 9.3.

9.2. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.1.1, 9.1.2 и 9.1.3, растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир (9 : 1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают 2 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир (9 : 1, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 20 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир (9 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Металаксил элюируют с колонки 25 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир (1 : 1, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на концентрирующем патроне № 1

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2, растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на подготовленный концентрирующий патрон № 1 (п. 7.6). Патрон промывают 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему) со скоростью 5 мл/мин, элюат отбрасывают. Металаксил элюируют 4 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) в круглодонную колбу вместимостью 50 $см^3$ и раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Остаток экстрактов растворяют в 1,25 $см^3$ смеси гексан–этилацетат с объемным соотношением компонентов 8 : 2, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание мефеноксама по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с термоионным детектором, снабженный приспособлениями для капиллярной колонки.

Хроматографическая кварцевая капиллярная колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с нанесенной пленкой из смеси 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм.

Температура: детектора – 295 °С;
испарителя – 270 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 170 °С, выдержка 2 мин; нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 230 °С, выдержка – 0 мин; нагрев колонки со скоростью 5 градусов в минуту до температуры 250 °С, вы-

держка 3 мин; нагрев со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 280 °С, выдержка – 10 мин.

Расход газов: газа-носителя (гелий) – 2,0 $см^3$/мин;
водорода – 4,6 $см^3$/мин;
воздуха – 175 $см^3$/мин;
поток поддува – 28 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,20—2,0 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 2,0 мкг/$см^3$, разбавляют смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2.

10. Обработка результатов анализа

Содержание металаксила в пробе (X, мг/кг) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V}{m}, \text{ где}$$

C – концентрация металаксила, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, 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 патроне и последующего хроматографического определения, г.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (1):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r, \text{ где} \qquad (1)$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

В случае, если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание металаксила в пробах зеленой массы, зерна и масла кукурузы, зерна и масла сои – менее 0,05 мг/кг»**.

* 0,05 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии опытов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание металаксила в которых должно охватывать весь диапазон от 0,2 до 2,0 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого градуировочного раствора, используемого для контроля, сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq B, \text{ где} \qquad (2)$$

X – содержание металаксила в пробе при контрольном измерении, мкг;

C – известное содержание металаксила в градуировочном растворе, взятом для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг;

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (равен 10 % при $P = 0{,}95$).

Если величина расхождения (*А*) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов металаксила, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.4.

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг.

Допустимо характеристику погрешности результатов анализа при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражения $\Delta_л = \pm 0{,}84\Delta$ с последующим уточнением по мере накопления информации,

$$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta, \text{ где}$$

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Контроль проводят путем сравнения результата контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля K.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}}$$

Проводят сопоставление результата контрольной процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (3)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (3) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (3) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предел воспроизводимости (R):

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

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

R – предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

gost.e-ecolog.ru