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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник
МУК 4.1.2777—4.1.2786—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—179 с.

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств паклобутразола в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2785—10

1. Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии (Л. В. Дубовая, А. М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 14.10.2010 № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 24 ноября 2010 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 ноября 2010 г.
Дата введения: с момента утверждения.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств паклобутразола в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2785—10

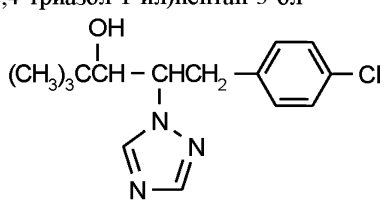
Общие положения

Свидетельство об аттестации методики № 0035.16.07.10 от 19.07.2010.

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств паклобутразола в воде в диапазоне 0,001—0,01 мг/дм^3, в почве и семенах рапса в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в зеленой массе и масле рапса в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Паклобутразол

Название вещества по ИЮПАК: (2RS, 3RS)-1-(4-хлорфенил)-4,4-диметил-2-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)пентан-3-ол



$C_{15}H_{20}ClN_3O$
Мол. масса: 293,8.

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления 165—166 °С. Давление паров при 20 °С: 0,001 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 3,2. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: вода – 0,026, н-гексан – 10, дихлорметан – 100, ацетон – 110, метанол – 150, циклогексан – 180.

Вещество устойчиво к фотолизу и гидролизу в кислой, нейтральной и щелочной средах.

В почвах паклобутразол разрушается очень медленно (в среднем DT_{50} = 180—360 дней); только в щелочных почвах (pH 8,8) этот процесс протекает быстрее (DT_{50} < 42 дней).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1 300—2 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс и кроликов – > 1 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 3,2—4,8 мг/дм^3 воздуха. Оказывает слабое раздражающее действие на слизистую оболочку глаз и кожу. LC_{50} для рыб – 27,8 мг/дм^3 (96 ч). Паклобутразол нетоксичен для птиц, пчел, дафний, водорослей.

Область применения

Паклобутразол – системный ретардант, обладающий также фунгицидными свойствами. Как ретардант активен на ряде плодовых, древесных, декоративных и зерновых культур. Препарат ингибирует вегетативный рост и увеличивает образование плодовых почек у некоторых плодовых культур, тормозит рост и уменьшает полегание зерновых культур. Помимо этого в небольших дозах он проявляет фунгицидный эффект в отношении возбудителей мучнистой росы и парши. Паклобутразол свободно передвигается по флоэме и ксилеме и поэтому активен как при опрыскивании растений, так и при внесении в почву.

Проходит регистрационные испытания в России в качестве ретарданта и фунгицида в составе смесевых препаратов на посевах ярового рапса при норме расхода до 60 г д.в./га и двукратной обработке за сезон.

1. Метрологические характеристики метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и ее составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в табл. 1.

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

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P = 0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Вода	от 0,001 до 0,01 вкл.	100	2,9	8	9
Почва	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,8	8	9
	более 0,1 до 0,2 вкл.	25	2,5	7	8
Зеленая масса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	2,9	8	10
	более 0,1 до 0,5 вкл.	25	2,7	7	9
Семена	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,7	7	9
	более 0,1 до 0,2 вкл.	25	2,2	6	7
Масло	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,0	8	10
	более 0,1 до 0,5 вкл.	25	2,6	7	8

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/дм^3 мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Полнота извлечения вещества, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Вода	0,001	0,001—0,01	91,3	2,6	± 2,5
Почва	0,02	0,02—0,2	88,7	3,6	± 3,3
Зеленая масса	0,05	0,05—0,5	86,1	4,1	± 3,8
Семена	0,02	0,02—0,2	84,8	3,3	± 3,1
Масло	0,05	0,05—0,5	86,0	3,4	± 3,2

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД). Контроль паклобутразола в матрицах осуществляется по

содержанию вещества после экстракции его из воды смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), из почвы и зеленой массы рапса водным ацетоном, из семян и масла рапса ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем.

Идентификация вещества проводится по времени удерживания, количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» ТИД (СКБ «Хроматэк», Россия)	номер Госреестра № 14516-95
Весы аналитические Sartorius 6110 с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и пределом допустимой погрешности 0,0001 г	ГОСТ 24104—2001
Весы лабораторные Metler P-160 с наибольшим пределом взвешивания до 160 г и пределом допустимой погрешности 0,005 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
Микрошприц МШ-1А	ТУ 64-1-2850

3.2. Реактивы

Аналитический стандарт паклобутразола (CAS 76738-62-0) с содержанием основного вещества 99,7 % (Сингента, Швейцария)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил, квалификации хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода дистиллированная или деионизированная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан, квалификации хч	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый, квалификации хч	ГОСТ 4221—76
Калия перманганат, квалификации хч	ГОСТ 20490—75

Кальция хлорид, квалификации хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная, квалификации хч	ГОСТ 4204—77
Натрий углекислый, квалификации хч	ГОСТ 83—63
Натрия сульфат, безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), квалификации ч	ГОСТ 22300—76

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), квалификации осч	ГОСТ 9293—74
Аппарат для встряхивания проб АВУ-1	ТУ 64-1-1081—73
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая, нестерильная	ГОСТ 5556—81
Гомогенизатор «Omni-mixer» (Sorvall, США) или гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Дистиллятор Cyclon III, мод. 4 BD (Fistreem, Великобритания)	
Установка Elgastat B 114 с патроном Elgacan B 114 для получения деионизированной воды (Elga, Великобритания)	
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 25 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая ZB-1 (типа SE-30), длина 25 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США) или аналогичная	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8—10 мм	
Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236—84
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель B-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-11-917—76

Силикагель 60 (0,063—0,2 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, Германия)	
Стаканы химические вместимостью 50 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

Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с техническими и метрологическими характеристиками не хуже приведенных в разделе 3.

4. Требования безопасности

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

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия выполнения измерений

6.1. 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 %.

6.2. Условия хроматографического анализа

Температура термостата испарителя 270 °С;

Температура детектора 300 °С.

Режим программирования температуры колонки:

начальная температура 170 °С (1 мин), скорость подъема температуры до 245 °С (0 мин) 20 °С/мин;

от 245 до 260 °С (4 мин), скорость подъема температуры 5 °С/мин;

от 260 до 280 °С (5 мин), скорость подъема температуры 20 °С/мин.

Расход газов:

газа-носителя (азот) 2,2 $см^3$/мин;

водорода 12,2 $см^3$/мин;

воздуха 185 $см^3$/мин.

Деление потока: 1 : 1.

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Время удерживания паклобутразола: 6 мин 07 с ± 2 %.

Линейный диапазон детектирования: (0,05—1,0) нг.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем.

7.1. Очистка 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 поташом.

7.1.2. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5 %-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

7.1.3. Очистка ацетона

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

7.1.4. 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, высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре в течение 5—6 часов и затем активируют при температуре 130 °С в течение 5 часов.

7.2. 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 3 г силикагеля в 15 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 $см^3$ гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

7.3. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания паклобутразола из колонки с силикагелем

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

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора № 1 паклобутразола с массовой концентрацией 10,0 мкг/$см^3$ в смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) (п. 7.5.2) и отдувают растворитель током теплого воздуха. Остаток растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 7.2. Промывают колонку 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Затем через колонку с силикагелем пропускают 50 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему), отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, сухие остатки растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан—этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и затем хроматографируют в соответствии с п. 6.2. По результатам обнаружения паклобутразола в каждой фракции определяют объем смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему), необходимый для полного вымывания вещества с колонки.

Примечание. При разработке метода анализа паклобутразола в масличных культурах целесообразно проверку хроматографического поведения вещества на колонке с силикагелем проводить с использованием экстрактов контрольных образцов семян и масла.

7.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку ZB-1 (типа SE-30) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280 °С и скорости газа-носителя 2 $см^3$/мин в течение 8—10 часов.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходный раствор паклобутразола для градуировки с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г паклобутразола, растворяют в 40 $см^3$ ацетона, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают.

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

7.5.2. Градуировочный раствор паклобутразола с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10,0 $см^3$ исходного раствора паклобутразола с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.5.1), разбавляют смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов № 2—5.

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

7.5.3. Градуировочные растворы паклобутразола 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 паклобутразола с массовой концентрацией 10,0 мкг/$см^3$ (п. 7.5.2), доводят до метки смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией паклобутразола 0,05, 0,1, 0,25 и 0,5 мкг/$см^3$, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.6. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ·с) от концентрации паклобутразола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м градуировочным растворам (п. 7.5.3).

В испаритель (инжектор) хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 7.5.3) и анализируют при условиях хроматогрфирования по п. 6.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости r.

7.7. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменения 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:

$$\frac{S_{изм} - S_{гр}}{S_{гр}} \cdot 100 \le K_{гр}, \text{ где}$$

$S_{изм}$ и $S_{гр}$ – значение площади пика паклобутразола в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике, соответственно, усл. ед.;

$K_{гр}$ – норматив контроля, $K_{гр} = 0{,}5\ \Delta$, 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.

8. Отбор, подготовка и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов

питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.1979) и правилами, определенными ГОСТ Р.51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 17.4.3.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 8988—2002 «Масло рапсовое. ТУ».

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 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 рапса хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 1 дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при (–18) °С.

Пробы семян подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы масла рапса хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре (0—4) °С. В некоторых случаях масло получают из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

Перед проведением анализа зеленую массу измельчают, а семена размалывают на электрической мельнице.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция и очистка

9.1.1. Вода. 100 см^3 отфильтрованной воды помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3, добавляют 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) и воронку интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой отделяют и фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу. Водную фазу экстрагируют указанной выше смесью еще дважды порциями по 25 см^3. Объединенную органическую фракцию упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше

30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), раствор помещают в ультразвуковую ванну на 1 минуту и анализируют на содержание паклобутразола по 10.

9.1.2. Почва. Образец воздушно-сухой почвы массой 25 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 125 $см^3$ смеси ацетон–вода (8 : 2, 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 смеси в течение 30 минут при встряхивании и фильтруют. Измеряют объем объединенного экстракта и 1/5 его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 9.2.

9.1.3. Зеленая масса. Навеску (20 г) измельченного растительного материала помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, приливают 100 $см^3$ смеси ацетон–вода (8 : 2, по объему), перемешивают и колбу помещают на встряхиватель на 40 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 $см^3$. Остаток на фильтре промывают 50 $см^3$ смеси ацетон–вода (8 : 2, по объему). Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и ¼ его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.4. Семена. Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ ацетонитрила 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 $см^3$. Растительный материал, оставшийся на фильтре, повторно экстрагируют 30 $см^3$ ацетонитрила в течение 30 минут при встряхивании и суспензию фильтруют. Измеряют объем объединенного ацетонитрильного экстракта и ½ его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. В воронку вносят 10 $см^3$ насыщенного ацетонитрилом гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 9.3.

9.1.5. Масло. Образец масла массой 5 г переносят в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и колбу

помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в делительную воронку через слой ваты, помещенной в конусную воронку. К оставшемуся в колбе маслу приливают 25 $см^3$ ацетонитрила и операцию экстракции повторяют. После декантации вату промывают 10 $см^3$ ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. В делительную воронку, содержащую объединенную ацетонитрильную фракцию, вносят 15 $см^3$ насыщенного ацетонитрилом гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее очистку экстракта проводят по п. 9.3.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракты, полученные по пп. 9.1.2 и 9.1.3 и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка при температуре не выше 40 °С. К водному остатку прибавляют 20 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. В воронку вносят 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2), интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему). Объединенную органическую фракцию, содержащую паклобутразол, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Сухой остаток экстракта почвы растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), раствор помещают в ультразвуковую ванну на 1 минуту и анализируют на содержание паклобутразола по п. 10. Экстракт зеленой массы подвергают дальнейшей очистке по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток экстрактов семян и масла, полученный по пп. 9.1.4 и 9.1.5, и сухой остаток экстракта зеленой массы, полученный по п. 9.2, растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 25 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) при анализе экс-

тракта зеленой массы и 15 $см^3$ этой же смеси при анализе экстрактов семян и масла со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Паклобутразол элюируют с колонки 50 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток экстракта семян растворяют в 2 $см^3$, а экстрактов зеленой массы и масла в 5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание паклобутразола по п. 10.

10. Выполнение измерений

10.1. В испаритель хроматографа вводят по 1 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 9.1—9.3), анализируют при условиях п. 6.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждого образца воды, почвы, зеленой массы, семян и масла рапса повторяют операции по пп. 9.1—9.3, 10.1.

11. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программа сбора и обработки хроматографической информации «Хроматэк Аналитик» версия 1.20.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание паклобутразола рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{100 \cdot H_0 \cdot m}$$, где

X – содержание паклобутразола в пробе, мг/$дм^3$, мг/кг;

H_1 – площадь пика образца, мВ·с;

H_o – площадь пика стандарта, мВ·с;

A – концентрация стандартного раствора паклобутразола, мкг/$см^3$;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, $см^3$;

m – масса анализируемого части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки и последующего хроматографического определения, $см^3$, г.

12. 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 (дм^3);

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.

13. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

($\overline{\tilde{O}} \pm \Delta$) мг/кг (дм^3) при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\overline{\tilde{O}}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг (дм^3);

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм^3);

$$\Delta = \delta \cdot X / 100,$$

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 вещества в пробе «менее нижней границы определения»
*менее 0,001 мг/дм^3 для воды**
*менее 0,02 мг/кг для почвы и семян***
*менее 0,05 мг/кг для зеленой массы и масла****
** 0,001 мг/дм^3 – предел обнаружения для воды*
*** 0,02 мг/кг – предел обнаружения для почвы и семян*
**** 0,05 мг/кг – предел обнаружения для зеленой массы и масла*

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал паклобутразола, 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 расчете содержания паклобутразола учитывают разбавление.

14. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д = \Delta_{л,\overline{X}} + \Delta_{л,\overline{X}'}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{л,\overline{X}}$ ($\pm \Delta_{л,\overline{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/кг (дм^3), при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм^3);

$$\Delta = \delta \cdot X / 100,$$

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\overline{X}'$, $\overline{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 12) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг (дм^3);

Норматив контроля K рассчитывают по формуле

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

14.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le R \text{, где} \qquad (3)$$

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг (дм^3);

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

Приложение
Таблица

Полнота определения паклобутразола в модельных матрицах ($n = 5$)

Матрица	Внесено паклобутразола, мг/дм^3, мг/кг	Открыто паклобутразола, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Вода	0,001	89,2	± 3,3
	0,002	91,2	± 2,4
	0,005	91,8	± 2,3
	0,01	93,0	± 1,7
Почва	0,02	86,0	± 3,9
	0,04	88,0	± 3,2
	0,10	88,6	± 2,4
	0,20	92,2	± 2,1
Зеленая масса	0,05	83,4	± 4,4
	0,10	84,6	± 3,3
	0,25	86,0	± 2,8
	0,50	90,2	± 2,5
Семена рапса	0,02	83,0	± 3,3
	0,04	83,2	± 3,2
	0,10	85,6	± 2,7
	0,20	87,2	± 2,3
Масло рапса	0,05	85,4	± 4,0
	0,10	84,0	± 3,2
	0,25	86,0	± 3,0
	0,50	88,4	±2,7

Приложение
Таблица

Полнота определения дифеноконазола в модельных матрицах (*n* = 5)

Матрица	Внесено дифеноконазола мг/кг	Открыто дифеноконазола, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Зеленая масса	0,05	83,4	± 3,7
	0,10	84,6	± 2,5
	0,25	85,6	± 2,3
	0,50	87,6	± 2,1
Семена	0,02	84,0	± 3,7
	0,04	84,4	± 3,0
	0,10	85,4	± 2,5
	0,20	88,2	± 2,2
Масло	0,05	82,8	± 2,7
	0,10	83,6	± 2,5
	0,25	85,4	± 2,2
	0,50	87,0	± 2,3

Содержание

Определение остаточных количеств Фамоксадона в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2777—10 3

Определение остаточных количеств Цимоксанила в луке-перо и луке-репке методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2778—10 23

Определение остаточных количеств Пикоксистробина в воде, почве, зерне и соломе зерновых культур, зеленой массе и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2779—10 41

Определение остаточных количеств флуазинама в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии МУК 4.1.2780—10 67

Определение остаточных количеств напропамида в семенах и масле рапса и плодах томатов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2781—10 79

Определение остаточных количеств карбендазима в зерне гороха и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2782—10 93

Определение остаточных количеств метрафенона в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых культур, ягодах и соке винограда методом ВЭЖХ: МУК 4.1.2783—10 107

Определение остаточных количеств дифеноконазола в ягодах и соке винограда методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2784—10 121

Определение остаточных количеств паклобутразола в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2785—10 139

Определение остаточных количеств дифеноконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2786—10 159

gost.e-ecolog.ru