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 Фамоксадона в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2777—10

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (авторы В. А. Калинин, профессор, канд. с-х. наук., Е. В. Довгилевич., ст.н.сотр., канд. биол. наук, А. В. Довгилевич, ст.н.сотр., канд. хим. наук, А. В. Калинин, мл.н.сотр).

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 Фамоксадона в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

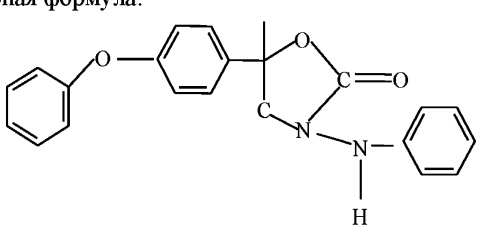
Методические указания МУК 4.1.2777—10

Общие положения

Свидетельство об аттестации методики № 0030.28.05.10 от 31.05.2010.

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств Фамоксадона в луке-перо и репке-луке в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Название действующего вещества по ИЮПАК:
3-анилино-5-метил-5-(4-феноксифенил)-2,4-оксазолидиндион.
Структурная формула:



Молекулярная масса: 374,4.
Эмпирическая формула: $C_{22}H_{18}N_2O_4$.
Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: светлый кремовый без запаха.

Давление паров: 6,4 х 10^{-7} Па (при 20°С).

Коэффициент распределения октанол-вода: K_{ow} log*P* = 4,8 (pH 5), K_{ow} log*P* = 4,65 (pH 7), K_{ow} log*P* = 5,55 (pH 9).

Температура плавления: 141,3—142,3 °С.

Растворимость в воде г/дм^3 (20 °С): pH 5—243 × 10^{-6}; pH 7—111 × 10^{-6}; при pH 9 вещество быстро гидролизуется.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С): н-октанол – 1,78; этилацетат – 124; ацетон – 274; ацетонитрил – 125; гексан – 0,0476; дихлорметан – 239; метанол – 10; толуол – 13,3.

Фамоксадон нестабилен в водных растворах. Подвергается гидролизу в диапазоне pH 5—9, DT_{50} составляет 41 день, 2 дня и 93 минуты при pH 5,0; 7,0 и 9,0 соответственно.

DT_{50} при фотолизе составляет 4,6 дней и 3,9 часов при pH 5 и 7,75 соответственно. При фотолизе образуются устойчивые к фотолизу метаболиты Фамоксадона и двуокись углерода.

В лабораторных условиях период полуразложения DT_{50} в почве составляет 6 дней в аэробных условиях и 28 дней – в анаэробных. Деградация происходит путем гидроксилирования и раскрытия кольца с образованием производных гликолевой кислоты. Первичная деградация была микробной и ускорялась под действием света.

Краткая токсикологическая характеристика: Фамоксадон относится к веществам мало опасным по острой пероральной и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2000 мг/кг), но умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 часа) более 5 300 мг/м^3). Не обладает генотоксичностью и онкогенными свойствами, не оказывает влияния на репродуктивную функцию. Из организма крыс Фамоксадон быстро выводится в неметаболизированом виде.

Область применения: Фамоксадон – фунгицид контактного действия из группы оксазолидиндионов. Является ингибитором митохондриального дыхания, высокоэффективен против широкого спектра патогенных грибов с рекомендуемой нормой расхода 50—200 г/га.

Применяется против фитофтороза и альтернариоза на картофеле с нормой расхода 0,15 кг д.в./га, также предлагается для применения на томатах, подсолнечнике, луке и виноградниках.

В России для Фамоксадона установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,01 мг/кг массы тела человека; ОДК в почве – 0,1 мг/кг; ПДК в воде (общ.) – 0,01 мг/дм^3; ОБУВ воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м^3; ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,01 мг/м^3; МДУ в картофе-

ле – 0,05 мг/кг; в томатах – 0,2 мг/кг; в винограде – 0,25 мг/кг; в семенах и масле подсолнечника – 0,1 мг/кг, лук-репка – 1,0 мг/кг.

1. Метрологическая характеристика метода

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 полного диапазона концентраций (n = 20) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для Фамоксадона

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P = 0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Лук-репка	0,10—0,50 вкл.	25	3,2	8,9	10,7
	0,05—0,10 вкл.	50	2,1	5,8	6,9
Лук-перо	0,10—0,50 вкл	25	4,5	12,5	14,9
	0,05—0,10 вкл.	50	3,9	10,8	12,9

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для Фамоксадона

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Лук-репка	0,05	0,05—0,50	75,8	5,8	2,3
Лук-перо	0,05	0,05—0,50	76,3	9,1	3,2

2. Метод измерений

Метод основан на определении Фамоксадона с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами, на колонках с Флоризилом и на колонках с окисью алюминия.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические «OHAUS», EP 114 с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г, класс точности по ГОСТ 24104-1 – специальный (I)	
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г «ACCULAB» V600, соответствуют классу точности по ГОСТ 24104-1 – средний (III)	
Колбы мерные на 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Хроматограф жидкостной Waters 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу, номер госрегистрации № 15311-02	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Фамоксадон, CAS 131807-57-3, аналитический стандарт с содержанием действующего веще-

ства не менее 97,7 %, Фирма Dr. Ehreustorfer GmbH, аккредитованная по ИСО-9001-2000	
Алюминий окись для хроматографии, ч	ТУ 6-09-3916—75
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода бидистиллированная (бидистиллят), деионизированная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный марки «А»	ТУ 51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцовокислый, хч	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота ортофосфорная (85 %), чда	ГОСТ 6552—80
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Этилацетат, чда	ГОСТ 22300—76
Флоризил® (Магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш, фирма «Acros Organics»	

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы.

Алонж прямой с отводом для вакуума (АО-14/23) для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1»	
Банки с крышками для экстракции на 250 $см^3$, полипропилен, кат. №3120-0250, фирма «NALGENE»	
Ванна ультразвуковая «UNITRA» UNIMA OL-SZTYN UM-4.	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней B-480, фирма «Buchi»	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82

Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$, и 4000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма «Waters»	
Насос диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport	
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 8, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters»	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100-500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$	
Фильтры бумажные, «красная лента»	ТУ 6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма «Waters»	

Допускается использование оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

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 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.

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 жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с Флоризилом и колонок с окисью алюминия для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с Флоризилом и на колонках с окисью алюминия, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Ацетон помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4000 $см^3$ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 $г/дм^3$.

Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 $г/дм^3$. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 $см^3$ аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллят помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 часов.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. Приготовление 2 % раствора сульфата натрия.

20 г безводного сульфата натрия переносят в мерную колбу на 1 000 см^3, добавляют 200—300 см^3 дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.1.2. Приготовление 0,1 % раствора калия марганцовокислого.

1 г калия марганцовокислого переносят в мерную колбу на 1 000 см^3, добавляют 200—300 см^3 дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.2. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил и 3,1 мМ раствор ортофосфорной кислоты.

7.2.2.1. Приготовление 3,1 мМ раствора ортофосфорной кислоты.

Мерной пипеткой отбирают 0,42 см^3 концентрированной (85 %) ортофосфорной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу объемом 2 000 см^3, куда предварительно наливают около 500 см^3 очищенной воды. Затем раствор перемешивают и доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.2.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ.

В плоскодонную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 650 см^3 ацетонитрила и 350 см^3 3,1 мМ раствора ортофосфорной кислоты в очищенной воде. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см^3/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту.

7.2.3. Приготовление градуировочных растворов

7.2.3.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией Фамоксадона 1,0 мг/см^3.

Взвешивают 50 мг Фамоксадона в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и построения калибровочной кривой.

7.2.3.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией Фамоксадона 10,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для построения калибровочной кривой.

7.2.3.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией Пироксулама 1,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 3 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.3.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией Фамоксадона 0,5 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 4 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.3.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией Фамоксадона 0,2 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 5 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.3.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией Фамоксадона 0,1 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 6 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.3.7. Стандартные растворы Фамоксадона с концентрацией 5,0; 2,0; 1,0; и 0,5 мкг/см^3 для внесения в образцы.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 5,0; 2,0; 1,0; и 0,5 мкг/см^{3}и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы.

7.3. Построение калибровочной кривой

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Фамоксадона в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 5-ти параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения Фамоксадона

7.4.1. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 3 г окиси алюминия с зернением 40/250 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 см^3 ацетонитрила.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения Фамоксадона на колонке с окисью алюминия

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора Фамоксадона в ацетонитриле с концентрацией 1,0 мкг/см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 10 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С. Исходную колбу обмывают еще двумя порциями ацетонитрила объемом по 10 см^3 каждая и последовательно вносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Фамоксадон, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

Изучение поведения Фамоксадона на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии окиси алюминия.

7.5. Подготовка колонки с Флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения Фамоксадона

7.5.1. Подготовка колонки с Флоризилом для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г Флоризила с зернением 60/100 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой Флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см.

Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в соотношении 2 : 1, избыток растворителя с колонки удаляют путем продавливания воздуха. Затем колонку дополнительно промывают 10 $см^3$ гексана. Перед внесением экстракта на колонку ее промывают дополнительно 5 $см^3$ гексана.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения Фамоксадона на колонке с Флоризилом

В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора Фамоксадона в ацетонитриле с концентрацией 1,0 мкг/ $см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 0,5 $см^3$ этилацетата, тщательно обмывают стенки концентратора, затем добавляют в колбу 5 $см^3$ гексана и полученную смесь вносят на колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С. Исходную колбу обмывают 15 $см^3$ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 10 : 1 и вносят на колонку. Затем колонку последовательно промывают тремя порциями смеси гексана с этилацетатом в соотношении 2 : 1 объемом 10 $см^3$ каждая. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток после упаривания каждой фракции растворяют в 2 мл ацетонитрила и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Фамоксадон, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

Изучение поведения Фамоксадона на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии Флоризила.

7.6. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 с предколонкой Symmetry C8 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1 $см^3$/мин 3—4 часа.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.1979), а также в соответствии с ГОСТ Р 51783—2001 «Лук репчатый свежий, реализуемый в розничной торговой сети. ТУ».

Пробы целого растения лука и репки лука хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре – 18 °С до 2-х лет.

9. Проведение определений

9.1. Лук-перо и лук-репка

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта

Образец измельченного зеленого лука (или лука-репки) массой 10 г помещают в банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают в ультразвуковую ванну на 15 минут, а затем на 20 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 $см^3$ через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 10 минут, а затем на 10 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракты объединяют в делительной воронке объемом 250 $см^3$.

К полученному экстракту добавляют 50 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а ацетонитрильный экстракт возвращают в делительную воронку и промывают еще од-

ной порцией гексана объемом 50 см^3. Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1 прибавляют 40 см^3 хлористого метилена, тщательно обмывая стенки концентратора, и переносят смыв в делительную воронку объемом 500 см^3. Затем концентратор обмывают еще двумя порциями хлористого метилена объемом по 30 см^3 и все смывы объединяют в делительной воронке. Туда же прибавляют 100 см^3 2 % раствора сульфата натрия и встряхивают воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) помещают в химический стакан объемом 200 см^3, верхний (водный) слой отбрасывают.

Хлористый метилен из химического стакана переносят в чистую делительную воронку объемом 250 см^3, прибавляют 100 см^3 2 % раствора сульфата натрия, 10 см^3 0,1 % раствора перманганата калия и повторяют процедуру промывки. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия, осушитель обмывают 10 см^3 хлористого метилена, объединяют смыв с основным экстрактом и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2 растворяют в 10 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора, наносят на заранее подготовленную колонку, элюат собирают в концентратор. Исходную колбу обмывают 10 см^3 ацетонитрила и вносят на колонку. Элюаты объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.4. Очистка экстракта на колонке с Флоризилом

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.3, растворяют в 0,5 см^3 этилацетата, обмывая стенки концентратора, затем в концентратор прибавляют 5 см^3 гексана, тщательно перемешивают и полученную смесь вносят на заранее подготовленную колонку. Колонку промывают 15 см^3 смеси гексана с этилацетатом в соотношении 10 : 1 и элюат отбрасывают. Фа-

моксадон элюируют с колонки 20 см^3 смеси гексана с этилацетатом в соотношении 2 : 1, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 5 см^3 ацетонитрила и 20 мм^3 раствора вводят в хроматограф.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматограф жидкостной Waters 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу, номер госрегистрации № 15311-02 или другой с аналогичными характеристиками.

Колонка стальная Symmetry Shield RP18, 250 мм × 4,6 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters».

Предколонка стальная Symmetry C8, 20 мм × 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters».

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил – 3,1 мМ орто-фосфорная кислота в соотношении 650 : 350.

Длина волны: 245 нм.

Время удерживания Фамоксадона: 10,835 мин ± 2 %.

Чувствительность не менее 0,003 AUFS (единиц абсорбции на шкалу).

Объем вводимой пробы: 20 мм^3.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа Millenium 3.05.01.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Фамоксадона рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P \text{, где}$$

X – содержание Фамоксадона в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мм;

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

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

m – масса анализируемого образца, г ($см^3$);

P – содержание Фамоксадона в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta \cdot \overline{X} /100,$$

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 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—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом 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, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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. 11), содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

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.

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

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

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

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг;

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

Таблица 1

Полнота извлечения Фамоксадона из пера и репки лука (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено Фамоксадона, мг/кг	Обнаружено амоксадона, мг/кг	Полнота извлечения, %
Лук-репка	0,05	0,0405 ± 0,0003	80,9
	0,10	0,0748 ± 0,0053	74,8
	0,20	0,1412 ± 0,0051	70,6
	0,50	0,3832 ± 0,0064	76,6
Лук-перо	0,05	0,0421 ± 0,0040	84,2
	0,10	0,0726 ± 0,0029	72,6
	0,20	0,1471 ± 0,0187	73,5
	0,50	0,3733 ± 0,0233	74,7

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