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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточного содержания пестицидов в воде, почве и сельскохозяйственных культурах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2913—11; 4.1.2914—11; 4.1.2920—4.1.2922—11; 4.1.2937—11

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21+51.23
О60

О60 **Определение** остаточного содержания пестицидов в воде, почве и сельскохозяйственных культурах: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.—88 с.

1. Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 2.06.2011 № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 12 июля 2011 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

Редактор Н. Е. Акопова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 07.02.12

Формат 60x88/16 Печ. л. 5,5

Тираж 200 экз. Заказ 5

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2012
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012

Содержание

Методика измерений остаточного содержания флуопирама в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2913—11 4
Методика измерений остаточного содержания дифлюфеникана в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2914—11 18
Методика измерений остаточного содержания флуоксастробина в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2920—11 32
Методика измерений остаточного содержания клотианидина в зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2921—11 48
Определение остаточных количеств тефлутрина в луке репке методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2922—11 61
Методика измерений остаточного содержания тиаклоприда в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2937—11 75

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
12 июля 2011 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методика измерений остаточного содержания флуоксастробина в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2920—11

Введение

Флуоксастробин – системный синтетический фунгицид из класса стробилуринов, являющихся продуцентами гриба *Strobilurus tenacellus*. Механизм его действия связан с подавлением дыхания, приводящего к прекращению прорастания спор и роста мицелия. Вещество обладает защитным и искореняющим действием. При обработке вегетирующих растений в дозах до 200 г/га оно эффективно подавляет развитие возбудителей ржавчины, септориоза, мучнистой росы, ломкости стеблей и пятнистости листьев на посевах ячменя, пшеницы и других культур, а при протравливании семян зерновых колосовых культур в дозах 50—100 г/т защищает последние от заражения твердой и пыльной головней и фузариозной корневой гнилью.

1. Общие положения

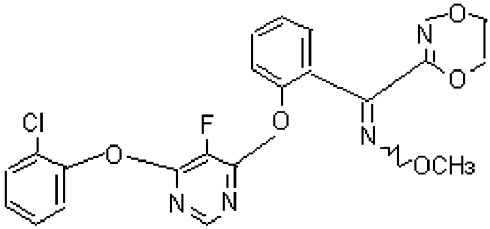
Свидетельство о метрологической аттестации от 27.01.2011 № 01.00225/6—11.

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой концентрации флуоксастробина в воде в диапазоне 0,001—0,010 мг/дм^3, массовой доли в почве и зерне в диапазоне 0,01—

0,10 мг/кг, в соломе в диапазоне 0,05—0,50 мг/кг методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Название вещества по ИСО: флуоксастробин

Название вещества по ИЮПАК: (1E)-{2-[6-(2-хлорфенокси)-5-фторпиримидин-4-илокси]фенил}(5,6-дигидро-1,4,2-диоксазин-3-ил)метанон О-метилоксим



$C_{21}H_{16}ClFN_4O_5$.

Мол. масса: 458,8.

Белое кристаллическое вещество со слабым запахом, состоит из двух оптических изомеров E и Z. Температура плавления: 103—108 °С. Давление паров при 20 °С: 6×10^{-7} мПа. Коэффициент распределения в системе н-октанол/вода при 20 °С: K_{ow} log P = 2,86. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: н-гептан – 0,04, 2-пропанол – 6,7, ксилол – 38,1, ацетон, ацетонитрил, дихлорметан, этилацетат – все более 250; вода – 0,0023.

Вещество стабильно при хранении на воздухе, а также в кислой и щелочной средах (DT_{50} = >1 года).

В присутствии света в водных фотолитических условиях флуоксастробин достаточно быстро деградирует с периодом полураспада 4,1 дня.

В биологически активных почвах в аэробных условиях флуоксастробин разрушается достаточно медленно: показатель DT_{50} варьирует от нескольких дней до нескольких недель.

2. Метрологические характеристики

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

Таблица 1

Анализируемый объект		Диапазон измерений содержания флуоксастробина, $млн^{-1}$ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm\delta$, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости, r, %, $P = 0,95$, $n = 2$	Критическая разность для результатов анализа, полученных в двух лабораториях, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$)
E-изомер	Вода	От 0,0010 до 0,005 вкл. (мг/дм^3)	60	17	26	47	64
		Св. 0,005 до 0,010 вкл. (мг/дм^3)	40	12	18	33	44
	Почва	От 0,010 до 0,05 вкл.	75	15	22	42	53
		Св. 0,05 до 0,10 вкл.	55	10	16	28	40
	Зерно	От 0,010 до 0,05 вкл.	80	18	27	50	66
		Св. 0,05 до 0,10 вкл.	45	12	18	33	44
	Солома	От 0,05 до 0,10 вкл.	85	17	26	47	64
		Св. 0,10 до 0,5 вкл.	55	10	15	28	37
Z-изомер	Вода	От 0,0010 до 0,005 вкл. (мг/дм^3)	65	15	22	42	53
		Св. 0,005 до 0,010 вкл. (мг/дм^3)	47	12	18	33	44
	Почва	От 0,010 до 0,05 вкл.	80	16	24	44	59
		Св. 0,05 до 0,10 вкл.	70	11	18	31	45
	Зерно	От 0,010 до 0,05 вкл.	73	15	22	42	53
		Св. 0,05 до 0,10 вкл.	55	10	16	28	40
	Солома	От 0,05 до 0,10 вкл.	60	13	20	36	49
		Св. 0,10 до 0,5 вкл.	50	9	14	25	35

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции E и Z-изомеров флуоксастробина из воды гексаном, из почвы, зерна и соломы водным раствором ацетона, очистке экстрактов, содержащих флуоксастробин, от коэкстрактивных компонентов перераспределением их в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с флоризилом, с последующим измерением содержания E и Z-изомеров флуоксастробина в очищенных экстрактах на жидкостном хроматографе с ультрафиолетовым детектированием, обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки, расчётом содержания каждого из изомеров. За содержание флуоксастробина в образцах воды, почвы, зерна, соломы принимают сумму концентраций изомеров.

4. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирма Knauer, Германия) (номер Госреестра 16848-03)	
Весы 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 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
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 100 мм^3, модель Microliter # 1710 («Hamilton»,США)	

4.2. Реактивы

Е-изомер флуоксастробина (CAS 193740-76-0) с содержанием основного вещества не менее 99,5 %, аналитический стандарт (Байер, Германия)	
Z-изомер флуоксастробина (CAS 361377-29-9) с содержанием основного вещества не менее 99,8 %, аналитический стандарт (Байер, Германия)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для хроматографии, квалификации хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода бидистиллированная 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
Кислота уксусная ледяная, квалификации чда	ГОСТ 61—75
Натрия сульфат безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, квалификации хч	ГОСТ 83-63
Этиловый эфир уксусной кислоты этилацетат), квалификации ч	ГОСТ 22300—76

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Дистиллятор Cyclon III, модель 4 BD (Fistreem, Великобритания)	
Установка Elgastat B 114 с патроном Elgacan B 114 для получения деионизированной воды (Elga, Великобритания)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 25, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93

Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Колонка хроматографическая стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4,6 мм, Kromasil 100-C18, зернение 5 мкм	
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
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641-75)
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные	ТУ 6-09-2678—77
Фильтры мембранные, диаметром 47 мм с размером пор 0,45 мкм, фирма Pall Corp., (США)	
Флоризил (60—100 меш.) для колоночной хроматографии (Acros organics, Германия)	

Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с техническими и метрологическими характеристиками, аналогичными приведенным в разделе 4.

5. Требования безопасности

5.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007—76, 12.1.005—88.

5.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ соблюдают требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91, и должны быть в наличии средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—90.

5.3. При выполнении измерений с использованием хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.4. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.51313—03 и 2.2.5.2308—07.

6. 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.

7. Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

7.1. Условия приготовления растворов и подготовки проб к анализу

– температура воздуха (20 ± 5) °С;
– атмосферное давление (84—106) кПа;
– относительная влажность воздуха не более 80 %.

7.2. Условия хроматографического анализа

Температура колонки: комнатная.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода–уксусная кислота (с объемным соотношением компонентов 58 : 42 : 0,01).

Скорость потока элюента: 0,8 $см^3$/мин.

Рабочая длина волны: 250 нм.

Чувствительность: 0,001 ед. абсорбции на шкалу.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Время удерживания Е-изомера флуоксастробина: (12,0 ± 0,2) мин.

Время удерживания Z-изомера флуоксастробина: (16,4 ± 0,2) мин.

Линейный диапазон детектирования: 1—10 нг.

8. Подготовка к выполнению измерений

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

8.1. Очистка органических растворителей

8.1.1. Очистка ацетона

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

8.1.2. Очистка этилацетата

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %

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

Этилацетат промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 % насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют. Срок хранения – 1 неделя.

8.1.3. Очистка 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. Срок хранения – 1 неделя.

8.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 580 см^3 ацетонитрила, 0,1 см^3 уксусной кислоты и доводят объем раствора до метки бидистиллированной водой. Раствор перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр, дегазируют.

8.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают хроматографическую колонку Kromasil 100-5C18 подвижной фазой для ВЭЖХ, приготовленной по п.8.2, при скорости подачи растворителя 0,5 см^3/мин не менее 2 ч до установления стабильной базовой линии (дрейф базовой линии в течение 1 ч не более 5 %, а уровень шумов не более 2 % диапазона выходного сигнала на шкале измерений).

8.4. Подготовка колонки с флоризилом 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 5 г флоризила в 20 см^3 этилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.5. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания флуоксастробина из колонки с флоризилом

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

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора Е-изомера флуоксастробина с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ в ацетонитриле (п. 8.6.2). Раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 8.4. Промывают колонку 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (6 : 4, по объему), отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 2 $см^3$ подвижной фазы, подготовленной по п. 8.2, перемешивают, а затем хроматографируют в соответствии с п. 7.2.

По результатам обнаружения флуоксастробина в каждой из фракций определяют объем смеси гексан–этилацетат (6 : 4, по объему), необходимый для полного вымывания фунгицида из колонки.

8.6. Приготовление градуировочных растворов

8.6.1. Исходные растворы Е- и Z-изомеров флуоксастробина для градуировки с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$

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

Раствор хранят при температуре не выше минус 18 °С в течение месяца.

8.6.2. Градуировочные растворы Е- и Z-изомеров флуоксастробина с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора Е- или Z-изомера флуоксастробина с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 8.6.1), раствор разбавляют ацетонитрилом и доводят объем до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5.

Градуировочный раствор № 1 хранят при температуре не выше минус 18 °С в течение месяца.

8.6.3. Градуировочные растворы Е- и Z-изомеров флуоксастробина с массовой концентрацией 0,05—0,50 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 Е- или Z-изомера флуоксастробина с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 8.6.2), объем доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 8.2, каждый раствор тщательно перемешивают, получают растворы № 2—5 с массовой концентрацией Е- и Z-изомеров флуоксастробина 0,05; 0,10; 0,25 и 0,5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.7. Градуировка хроматографа

Градуировочные характеристики, выражающие зависимости площадей пиков (мкВ · с) от массовой концентрации Е- или Z-изомера флуоксастробина в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам (п. 8.6.3).

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 8.6.3) и анализируют при условиях п. 7.2. Осуществляют не менее 3 параллельных определений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочные характеристики.

8.8. Контроль стабильности градуировочных характеристик

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией исследуемого вещества в начале, середине и в конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца по каждому из компонентов выполняется условие (1)

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

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика Е- или Z-изомера флуоксастробина в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, усл. ед.;

$K_{гр}$ – норматив контроля, $K_{гр} = 0,5 \cdot \delta$, где

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности, %, (табл. 1).

Если условие стабильности не выполняется только для одного образца, то повторно анализируют этот образец для исключения результата, содержащего грубую ошибку.

Если градуировка нестабильна, выясняют причины нестабильности и повторяют контроль стабильности с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново.

9. Отбор, подготовка и хранение проб

Отбор проб производят в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (от 21.08.79 № 2051—79) и правилами, определенными ГОСТ Р.51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», 17.4.3.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», 28168—89 «Почвы. Отбор проб», 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», Р.50436—92 «Зерновые. Отбор проб зерна», 27262—87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб».

Пробы воды анализируют в день отбора или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре минус 18 °С не более 2 недель.

Образцы почвы подсушивают при комнатной температуре в течение 24 ч на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре (4—6) °С не более 4 недель. Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре минус 18 °С.

Пробы зерна и соломы высушивают до стандартной влажности (в соответствии с ГОСТ 10852—86) и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Перед проведением анализов зерно и солому измельчают.

9.1. Экстракция флуоксастробина

9.1.1. Вода. 100 см^3 предварительно отфильтрованной воды помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3, приливают 50 см^3

гексана и воронку интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз верхний органический слой отделяют и фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ гексана. Объединенную органическую фазу пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 8.2), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание флуоксастробина по п. 10.

9.1.2. Почва. Навеску (20 г) воздушно-сухой почвы помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, приливают 100 $см^3$ смеси ацетон–вода (3 : 1, по объёму), перемешивают. Суспензию помещают в ультразвуковую ванну на 10 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 $см^3$. Почву повторно экстрагируют 50 $см^3$ смеси ацетон–вода (3 : 1, по объему) в течение 30 мин при встряхивании и фильтруют. Измеряют объем объединенного экстракта и ¼ его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 9.2.

9.1.3. Зерно, солома. Образец размолотого зерна (10 г) или соломы (5 г) помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, приливают 25 $см^3$ деионизированной воды и спустя 30 мин 75 $см^3$ ацетона. Колбу помещают в ультразвуковую ванну на 10 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена. Растительные остатки переносят в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ смеси ацетон–вода (3 : 1, по объему), помещают на встряхиватель на 30 мин и суспензию фильтруют. Измеряют объем объединенного экстракта, отбирают $^1/_2$ часть экстракта зерна, эквивалентную 5 г образца, или $^1/_5$ часть экстракта соломы, эквивалентную 1 г образца, и переносят его в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Далее проводят очистку экстрактов по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Отобранные аликвоты экстрактов почвы, зерна и соломы, полученные по пп. 9.1.2 и 9.1.3 и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (не менее 5 $см^3$) при температуре не выше 40 °С. Водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. Колбу ополаскивают 40 $см^3$ деионизированной воды, которую также переносят в делительную во-

ронку. К водному раствору приливают 30 см^3 гексана и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз гексановый слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 гексана. Объединенную органическую фракцию упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Сухой остаток экстрактов почвы, зерна и соломы, полученный по п. 9.2, растворяют в 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объёму), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с флоризилом, подготовленную по п. 8.4. Колбу обмывают 2 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объёму), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объёму) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Флуоксастробин элюируют с колонки 35 см^3 смеси гексан–этилацетат (6 : 4, по объёму), собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток экстрактов почвы, зерна и соломы растворяют в 1 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ, подготовленной по п. 8.2, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание флуоксастробина по п. 10.

Полнота извлечения изомеров флуоксастробина при проведении всех операций подготовки пробы не менее 83 % для образцов почвы, зерна и соломы и не менее 89 % для образцов воды.

10. Выполнение измерений

10.1. В инжектор хроматографа вводят 20 мм^3 очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 9.1.1—9.1.3), анализируют при условиях п. 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждого образца воды, почвы, зерна и соломы повторяют операции по пп. 9.1—9.3, 10.1.

11. Обработка результатов измерений

11.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации «МультиХром для Window», версия 1.5х.

Альтернативная обработка результатов.

По градуировочным характеристикам находят значение массовой концентрации каждого из изомеров флуоксастробина в экстрактах, C, мкг/см^3.

Массовую концентрацию Е- и Z-изомеров флуоксастробина X, (мг/дм^3) в образцах воды рассчитывают по формуле (2)

$$X = \frac{\tilde{N} \cdot V_{\text{экстр}}}{0,89 \cdot V_{\text{воды}}} \qquad (2)$$

Массовую долю Е- и Z-изомеров флуоксастробина X, (мг/кг) в образцах почвы, зерна и соломы рассчитывают по формуле (3)

$$X = \frac{\tilde{N} \cdot V_{\text{экстр}}}{0,83 \cdot m}, \text{ где} \qquad (3)$$

C – значение массовой концентрации Е- и Z-изомеров флуоксастробина в экстракте, мкг/см^3;

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

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

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

0,83 и 0,89 – коэффициент извлечения Е- и Z-изомеров флуоксастробина, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

Общее содержание флуоксастробина в каждом образце определяют как сумму массовых долей (для воды – массовых концентраций) Е- и Z-изомеров.

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой концентрации (доли) Е- и Z-изомеров флуоксастробина, мг/дм^3 (мг/кг);

r – значение предела повторяемости, % (табл. 1).

Если условие (4) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МВИ.

11.3. Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$\overline{X} \pm 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \text{ при } P = 0{,}95, \text{ где}$$

$\overline{X}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми по п. 11.2, мг/дм^3 (мг/кг);

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности измерений, % (табл. 1).

В случае если полученный результат измерений ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, то производят следующую запись в журнале:

«*массовая концентрация флуоксастробина в воде менее 0,001 мг/дм^3 (более 0,01 мг/дм^3)*»;

«*массовая доля флуоксастробина в почве и зерне менее 0,01 мг/кг (более 0,10 мг/кг)*»;

«*массовая доля флуоксастробина в соломе менее 0,05 мг/кг (более 0,50 мг/кг)*».

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал флуоксастробина, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,5 мкг/см^3, разбавляют и анализируют в соответствии с данной методикой.

12. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

12.1. Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

12.2. Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

12.3. Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ по формуле (5)

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

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

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

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, проводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если критическая разность превышена, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (5.3.4).

13. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 («Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»), используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по п. 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 и показателя правильности по п. 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002. Проверку стабильности осуществляют с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля стабильности результатов выполнения измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

14. Разработчики

Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии (Талалакина Т. Н., Макеев А. М.).

gost.e-ecolog.ru