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 4.1.2845—11, 4.1.2851—4.1.2858—11

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.—164 с.

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 28.12.2010 № 3).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 31.03.2011.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Редактор Е. В. Николаева
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 15.07.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 10,25

Тираж 200 экз. Заказ 94

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

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

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

Содержание

Определение остаточных количеств Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2845—11 4
Определение остаточных количеств Индоксакарба в луке-перо, луке-репке, плодах томата, томатном соке, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2851—11 21
Определение остаточных количеств Квинмерака в воде, почве, семенах и масле рапса методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2852—11 ... 43
Определение остаточных количеств Мезотриона в кукурузном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2853—11 65
Определение остаточных количеств Проквиназида в зерне и соломе зерновых культур методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2854—11 82
Определение остаточных количеств Пропиконазола в ягодах земляники и ягодных кустарников методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2855—11 97
Определение остаточных количеств Просульфокарба в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2856—11 111
Определение остаточных количеств Тербутилазина в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2857—11 128
Определение остаточных количеств Топрамезона в воде, почве, зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2858—11 143

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2845—11

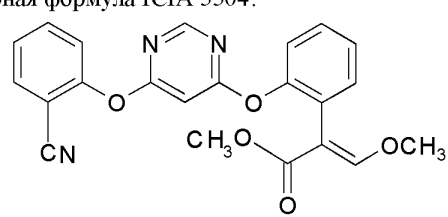
Общие положения и область применения

Свидетельство об аттестации методики от 28.09.2010. № 0045.22.09.10

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в клубнях картофеля в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Название действующего вещества ICIA 5504 по ИЮПАК: Метил(*E*)-2-{2-[6-(2-цианофенокси)пиримидин-4-илокси]фенил}-3-метоксиакрилат.

Структурная формула ICIA 5504:



Эмпирическая формула: $C_{22}H_{17}N_3O_5$.

Молекулярная масса: 403,4.

Агрегатное состояние: кристаллический порошок.

Цвет, запах: бесцветный, без запаха.

Давление паров: $1{,}1 \times 10^{-7}$ мПа (при 20 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: K_{ow} logP = 2,5 (при 20 °С).

Плотность: 1,34 г/см^3 (при 20 °С).

Температура плавления: 116 °С.

Растворимость в воде мг/дм^3 (25 °С): при pH 5,2—6,2; pH 7,0—6,7; pH 9,2—5,9.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С): ацетон – 86; ацетонитрил – 340; гексан – 0,057; дихлорметан – 400; метанол – 20; толуол – 55; этилацетат – 130; н-октанол – 1,40.

Азоксистробин стабилен в водных растворах при pH 5—7 при комнатной температуре, в т. ч. при концентрациях менее 1 мкг/кг.

В почве период полураспада 8 недель (лабораторные условия), 2 недели (полевые условия). Основным путем разложения вещества на поверхности почвы является фотолиз (период полураспада 11 дней) с образованием геометрического Z-изомера.

Краткая токсикологическая характеристика: Азоксистробин относится к веществам малоопасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг) и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг), но к опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) от 698 до 962 мг/м^3). Не обладает генотоксическим, канцерогенным и нейротоксическим действием.

Область применения: Азоксистробин – фунгицид защитного, куративного и искореняющего действия с трансламинарными и системными свойствами. Подавляет прорастание спор и роста мицелия, обладает антиспорулянтной активностью. В дозах 100—375 г/га применяется против мучнистой росы, ржавчины, чешуйчатой пятнистости, пятнистости листьев зерновых, ржавчины и корневых гнилей на рисе, милдью виноградной лозы, ржавчины и корневых гнилей на томате и картофеле, настоящей и ложной мучнистой росы тыквенных, корневых гнилей арахиса, цитрусовых, газонных трав. Препарат эффективен против штаммов патогенных грибов, устойчивых к ингибиторам C^{14}, – деметилазы, фениламидам, дикарбоксимидам и бензимидазолам.

Применяется в России в качестве фунгицида на томатах, огурцах в дозе 0,4—0,5 дм^3/га, винограде в дозе 0,6—0,8 дм^3/га и зерновых в дозе 0,5—1,0 дм^3/га. Проходит регистрационные испытания в России на посадках картофеля в качестве фунгицида с нормой расхода 3,0 дм^3/га.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

– ДСД – 0,03 мг/кг массы человека;

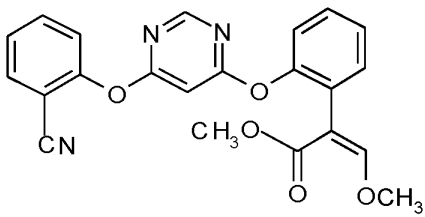
– ПДК в воде водоемов 0,01 мг/дм^3;

– МДУ в продукции: томаты, огурцы и виноград – 0,2 мг/кг; клубни картофеля – 0,05 мг/кг.

R 230310 – Z-геометрический изомер Азоксистробина.

Название действующего вещества R 230310 по ИЮПАК: (Z)-2-{2-[6-(2-цианофенокси)пиримидин-4-илокси]фенил}-3-метоксиакрилат.

Структурная формула:



R 230310 представляет собой кристаллический порошок желтого цвета.

Физико-химические свойства близки к физико-химическим свойствам Азоксистробина.

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 Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310)

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, %
Азоксистробин (ICIA 5504)					
Клубни картофеля	0,01—0,1 вкл.	50	4,71	13,08	15,57
Геометрический изомер Азоксистробина (R 230310)					
Клубни картофеля	0,01—0,1 вкл.	50	3,73	10,36	12,33

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310)

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, ±, %
Азоксистробин (ICIA 5504)					
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,1	76,3	2,89	1,35
Геометрический изомер Азоксистробина (R 230310)					
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,1	74,3	2,02	0,95

2. Метод измерений

Метод основан на определении Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов клубней картофеля органическим растворителем, очистки экстракта на концентрирующих патронах Диапак С8, Диапак Амин и Диапак С.

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—2001 – 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—2001 – средний (III)	
Микрошприц для жидкостной хроматографии, объем 100 мм^3, фирма «Hamilton», кат. № 80665	
Колбы мерные на 10, 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
pH-метр/милливольтметр pH-150 0…14 pH; ± 1 999 мВ, номер госрегистрации 10663	
Хроматограф жидкостной Waters 515 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

Азоксистробин, CAS 131860-33-8, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,7 %, фирма «Dr. Ehreustorfer GmbH», аккредитованная	ИСО-9001—2000
R 230310, CAS 23783-98-4, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 96,0 %, фирма «Dr. Ehreustorfer GmbH», аккредитованная	ИСО-9001—2000
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 марганцово-кислый, ч.д.а.	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Концентрирующие патроны Диапак Амин, Диапак С и Диапак С8 (0,6 г), фирма «БиоХимМак СТ»	ТУ 4215-002-05451931—94
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Этилацетат, ч.д.а.	ГОСТ 22300—76

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 Диапак С8, Диапак Амин и Диапак С	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 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$ 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, фирма «KNF Neu Laboport»	
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 18, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters»	
Сито лабораторное с полотном из латуни или нержавеющей стали с размером ячеек 1 мм	ГОСТ 3826—82 и ГОСТ 6613—86
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»	

Шприц инъекционный однократного применения объемом 10 $см^3$	ГОСТ 24861—91 (ИСО 7886—84)

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

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

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;
- 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 концентрирующих патронов Диапак Амин, Диапак С и Диапак С8 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах Диапак Амин, Диапак С и Диапак С8, построение калибровочных кривых.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. 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 ч. 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.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцово-кислый 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.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

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

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 подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 дм^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила и 500 см^3 очищенной воды. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см^3/мин в течение 5 мин, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 мин.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) – 1,0 мг/см^3.

Взвешивают 50 мг Азоксистробина (ICIA 5504) 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.

7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией геометрического изомера Азоксистробина (R 230310) – 1,0 мг/см^3.

Взвешивают 50 мг R 230310 в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 2 используют для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и построения калибровочной кривой.

7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 10,0 мкг/см^3.

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

7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 1,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 4 используется для хроматографического исследования и для построения калибровочной кривой.

7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 0,5 мкг/см^3.

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

7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 0,2 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 6 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.2.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 0,1 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 7 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.2.8. Стандартные растворы Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) с концентрацией 2,0, 1,0, 0,4, и 0,2 мкг/см^3 для внесения в образцы.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 2,0, 1,0, 0,4 и 0,2 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 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 параллельных измерений.

7.4. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С8 для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на них

7.4.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С8 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см^3/мин. При работе на патронах Диапак С8 используют очищенную воду.

Патрон Диапак С8 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 см^3 смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1 и 10 см^3 воды. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак С8

Из стандартного раствора Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в ацетонитриле, содержащего по 1 мкг/см^3 каждого соединения, отбирают 1 см^3, помещают в круглодонную колбу объемом 100 см^3 и выпаривают на ротационном вакуумном

испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 $см^3$ воды, перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 $см^3$, выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор сначала обмывают 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 5, затем тремя порциями по 5 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1 и вносят на патрон. Элюат упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Элюат после прохождения каждой порции упаривают досуха. Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Азоксистробин (ICIA 5504) и его геометрический изомер (R 230310), полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак С8 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов.

7.5. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин и Диапак С для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на них

7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин и Диапак С для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин.

Соединяют последовательно патроны Диапак Амин (вверху) и Диапак С (внизу), устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующие патроны промывают 10 $см^3$ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 9 : 1. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак Амин и Диапак С

Из стандартного раствора Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в ацетонитриле, содержащего по 1 мкг/см^3 каждого соединения, отбирают 1 см^3, помещают в круглодонную колбу объемом 100 см^3 и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см^3 гексана, помещают на 10 с в ультразвуковую ванну, перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют.

Исходный концентратор обмывают тремя порциями по 5 см^3 смеси гексана с этилацетатом 3 : 1 и вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Азоксистробин (ICIA 5504) и его геометрический изомер (R 230310), полноту смывания с колонки и необходимый объём элюента.

Изучение поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак Амин и Диапак С проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов.

7.6. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 с предколонкой Symmetry C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1 см^3/мин 3—4 ч.

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» от 21.08.1979 № 051—79, а также с ГОСТ 27853—88, ГОСТ 13341—77 «Свежие и свежемороженые овощи, картофель, бахчевые, фрукты, ягоды, грибы. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы клубней картофеля хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С.

9. Подготовка проб и выполнение измерений

9.1. Клубни картофеля

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, прибавляют 50 см^3 ацетонитрила и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну, а затем дополнительно на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют через фильтр «красная лента» в плоскодонную колбу объемом 250 см^3 с 5 г сухого хлористого натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 см^3 ацетонитрила и помещая на 5 мин в ультразвуковую ванну, а затем дополнительно на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракты фильтруют и объединяют в конической колбе объемом 250 см^3 с хлористым натрием, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 10 мин. Затем содержимое колбы (без нерастворившейся соли) переносят в делительную воронку объемом 250 см^3 и выдерживают 5 мин. Выделившуюся нижнюю водную фазу отбрасывают.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 50 см^3 гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а ацетонитрильный слой возвращают в делительную воронку и промывают еще одной 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 фильтрованием

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, прибавляют 5 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора, помещают на 10 с в ультразвуковую ванну, после чего фильтруют через фильтр «красная лента» в концентратор объемом 100 см^3. Исходный концентратор обмывают еще двумя порциями ацетонитрила объемом по 5 см^3 каждая, объединяют все смывы в концентраторе объемом 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С8

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора и помещая на 5 с в ультразвуковую ванну, прибавляют 9 см^3 воды, тщательно перемешивают и вносят на предварительно подготовленный патрон, элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 5, вносят на патрон, элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см^{3}смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1, вносят на патрон, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 30 °С и подвергают дальнейшей очистке на патронах Диапак С и Диапак Амин.

9.1.4. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С и Диапак Амин

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.3, растворяют в 1 см^3 этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см^3 гексана и вносят на предварительно подготовленные последовательно соединенные патроны Диапак Амин (вверху) и Диапак С (внизу). Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси гексана с этилацетатом в соотношении 1 : 3, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматограф жидкостной Waters 515 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 C18, 20 мм × 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters».

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода в соотношении 50 : 50.

Длина волны: 255 нм.

Время удерживания Азоксистробина (ICIA 5504) – 12,98—13,65 мин, его геометрического изомера (R 230310) 10,27—10,69 мин.

Объем вводимой пробы: 20 мм^3.

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

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 Азоксистробина рассчитывают по формуле:

$$\tilde{O} = \frac{S_{\text{ïð}} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{\text{ïð}} \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

X – содержание Азоксистробина или R 230310 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 Азоксистробина или R 230310 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):

$$\frac{2 \cdot \left| \tilde{O}_1 - \tilde{O}_2 \right| \cdot 100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \le r, \text{ где}$$

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:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta \cdot \bar{O}/100,$$

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 0,01 мг/кг*»*,

* – *0,01 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:

$$C_д = \Delta_{л,\bar{O}} + \Delta_{л,\bar{O}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{O}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{O}'}$) – 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;

$$\Delta = \delta \cdot \bar{O}/100, \text{ где}$$

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\bar{O}'$, $\bar{O}$, $C_д$ – 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:

$$\hat{E} = \sqrt{\Delta^2_{\ddot{e},\tilde{O}'} + \Delta^2_{\ddot{e},\tilde{O}}}$$

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):

$$\frac{2 \cdot |\tilde{O}_1 - \tilde{O}_2| \cdot 100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \le R \text{, где} \qquad (3)$$

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

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

14. Разработчики

Калинин В. А., профессор, канд. с-х. наук, Довгилевич Е. В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Довгилевич А. В., ст. н. сотр., канд. хим. наук, Устименко Н. В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Щербинкина Е. Н., инженер.

Российский государственный аграрный университет МСХА им. К. А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (495) 976-37-68, факс: (495) 976-43-26.

Приложение 1

Полнота извлечения Топрамезона из воды, почвы, зеленой массы, зерна и масла кукурузы (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено Топрамезона, мг/кг	Обнаружено Топрамезона, мг/кг	Полнота извлечения, %
Вода	0,005	0,0041 ± 0,0001	81,2
	0,010	0,0087 ± 0,0001	87,2
	0,020	0,0174 ± 0,0002	87,2
	0,050	0,0403 ± 0,0007	80,6
Почва	0,01	0,0083 ± 0,0001	83,4
	0,02	0,0152 ± 0,0002	76,0
	0,05	0,0411 ± 0,0004	82,1
	0,10	0,0846 ± 0,0004	84,6
Зерно кукурузы	0,01	0,0075 ± 0,0001	75,2
	0,02	0,0166 ± 0,001	83,1
	0,05	0,0416 ± 0,0003	83,3
	0,10	0,0736 ± 0,0017	73,6
Масло кукурузы	0,01	0,0086 ± 0,0002	86,4
	0,02	0,0182 ± 0,0004	91,
	0,05	0,0414 ± 0,0004	82,8
	0,10	0,0920 ± 0,0014	92,0
Зеленая масса кукурузы	0,05	0,0399±0,0007	79,8
	0,10	0,0788±0,0017	78,8
	0,20	0,1498±0,0030	74,9
	0,50	0,3744±0,0048	74,9

gost.e-ecolog.ru