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

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.1.2668—10, 4.1.2675—4.1.2679—10, 4.1.2683—4.1.2684—10, 4.1.2687—10, 4.1.2690—10, 4.1.2706—4.1.2709—10, 4.1.2768—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—228 с.

1. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 10.06.2010 № 1).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 2 августа 2010 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.21

Верстка Е. В. Ломанова

Подписано в печать 25.02.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 14,25

Тираж 200 экз. Заказ 46

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 клотианидина в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса, ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2668—10 4

Методика выполнения измерений остаточного содержания трифлоксистро-бина и его метаболита в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2675—10 20

Методика выполнения измерений остаточного содержания тиаклоприда в зеленой массе, семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2676—10 37

Методика выполнения измерений остаточного содержания протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2677—10 53

Определение остаточных количеств Пеноксулама в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2678—10 70

Определение остаточных количеств гидразида малеиновой кислоты (малеинового гидразида) в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2679—10 89

Методика выполнения измерений остаточного содержания триадименола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2683—10 103

Методика выполнения измерений остаточного содержания тебуконазола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2684—10 117

Методика выполнения измерений остаточного содержания мезосульфурон-метила в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2687—10 131

Методика выполнения измерений остаточного содержания спироксамина в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2690—10 149

Определение остаточных количеств эмамектина (эмамектина бензоата) в воде, почве, капусте, томатах, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2706—10 163

Измерение концентраций пикоксистробина в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2707—10 180

Определение остаточных количеств тирама в растительном масле методом газохроматографического парофазного анализа: МУК 4.1.2708—10 192

Измерение концентраций квинмерака в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2709—10 204

Определение остаточных количеств имидаклоприда в соке яблок и черной смородины, в масле кукурузы высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2768—10 216

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
2 августа 2010 г.
Дата введения: 1 октября 2010 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств Пеноксулама в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

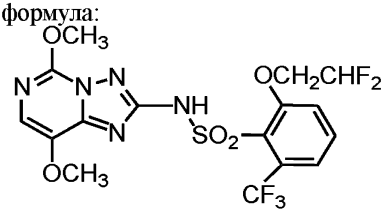
Методические указания МУК 4.1.2678—10

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации Пеноксулама в воде в диапазоне 0,0025—0,025 мг/дм^3 и в почве в диапазоне 0,1—1,0 мг/кг, а также уровня остаточных количеств в зерне риса в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг и в соломе риса в диапазоне 0,5—5,0 мг/кг.

Название действующего вещества по ИЮПАК:

2-*N*-[2-(2,2-дифторэтокси)-6-(трифторметил)бензолсульфонил]-2-амино-5,8 диметокси[1,2,4]триазоло[1,5-*c*]пиримидин.

Структурная формула:



$C_{16}H_{14}F_5N_5O_5S$
Мол. масса: 483,37.
Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: бледно розовый со слегка затхлым запахом.

Давление паров: $9{,}55 \times 10^{-14}$ Па (при 25 °С); $2{,}49 \times 10^{-14}$ Па (при 20 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: K_{ow} logP = –0,354 (без буфера), K_{ow} log*P* = 1,137 (pH 5), K_{ow} log*P* = –0,602 (pH 7), K_{ow} log*P* = –1,418 (pH 9).

Температура плавления: 212 °С.

Растворимость в воде мг/дм^3 (19 °С): Без буфера – 4,91; pH 5—5,66; pH 7—408; pH 9—1 460.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 19 °С): ксилол 0,017; 1,2-дихлороэтан – 1,99; метанол – 1,48; ацетон – 20,3; этилацетат – 3,23; н-октанол – 0,035; N,N-диметилформамид – 39,8; диметилсульфоксид – 78,4; ацетонитрил – 15,3.

Устойчив к гидролизу.

Пеноксулам – слабая кислота: pKa – 5,1 (при 20 °С).

Подвергается фотолизу, DT_{50} в воде составляет 2 дня, в почве 19 дней. Основной путь разложения в почве – микробиологический.

Краткая токсикологическая характеристика

Пеноксулам относится к веществам мало опасным по острой пероральной и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг), но умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 3 500 мг/м^3). Вызывает легкое покраснение кожных покровов и глаз кроликов, не вызывает покраснения кожных покровов морских свинок.

Область применения

Пеноксулам – гербицид системного действия, который проникает через листья и корни, хорошо передвигается по ксилеме и флоэме. Подавляет развитие злаковых однолетних сорняков, а также некоторых двудольных: сыть круглая, клубнекамыш при довсходовом, послевсходовом применении и внесении в воду в посевах риса при норме расхода 10—50 г д.в./га.

Предлагается в России для применения в посевах риса.

В России для Пеноксулама установлены следующие гигиенические нормативы: ПДК в воде – 0,003 мг/дм^3, ПДК в почве – 0,9 мг/кг; МДУ в зерне риса – 0,5 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 Пеноксулама

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, %
Вода	Менее 0,005	150	3,8	10,7	12,7
	0,005—0,01 вкл.	100	3,5	9,8	11,7
	0,01—0,025 вкл.	50	4,0	11,2	13,4
Почва	0,1—1,0 вкл.	25	5,0	14,0	20,0
Зерно риса	0,02—0,1 вкл.	50	4,5	12,6	15,0
	0,1—0,2 вкл.	25	4,5	12,6	15,0
Солома риса	0,5—1,0 вкл.	25	4,5	12,6	15,0
	1,0—5,0 вкл.	25	5,0	14,0	20,0

Таблица 2.

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

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, ±, %
Вода	0,005	0,005—0,05	95,7	2,6	0,6
Почва	0,1	0,1—1,0	79,8	2,4	0,53
Зерно риса	0,02	0,02—0,2	72,3	1,5	0,5
Солома риса	0,5	0,5—5,0	74,4	3,4	0,8

2. Метод измерений

Метод основан на определении Пеноксулама с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов водно-органической смесью растворителей, очистки экстракта перераспреде-

лением между двумя несмешивающимися фазами, на колонках с окисью алюминия и концентрирующих патронах Диапак С16.

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

Пеноксулам, CAS 219714-96-2, аналитический стандарт с содержанием д.в. не менее 98,0 %, Dr. Ehreustorfer GmbH, аккредитованный 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
Калий марганцево-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота соляная, хч	ГОСТ 857—95
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61—75
Концентрирующие патроны Диапак С 16 (0,6 г), фирма «БиоХимМак СТ»	ТУ 4215-002-05451931—94
Натрия углекислый, кислый, хч	ГОСТ 4201—79
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Эфир диэтиловый, ФС 42-3643-98	

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 С 16	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 OLSZTYN 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 В-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 фирмы KNF Neu Laboport	
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 8, 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»	
Центрифуга MPW-350e с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$	
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 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 окисью алюминия, концентрирующих патронов Диапак С 16 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонке с окисью алюминия и на концентрирующих патронах Диапак С16, построение калибровочной кривой.

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 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.

7.1.3. 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 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 свежеперегнанный ацетонитрил и очищенную воду, а также ледяную уксусную кислоту.

В плоскодонную колбу объемом 1 000 $см^3$ помещают 500 $см^3$ ацетонитрила, 500 $см^3$ очищенной воды и 1,0 $см^3$ ледяной уксусной кислоты. 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 рабочих растворов

7.2.2.1. Приготовление 6 М раствора соляной кислоты.

Мерным цилиндром отбирают 246 $см^3$ концентрированной соляной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 500 $см^3$, куда предварительно наливают около 100 $см^3$ дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.2.2. Приготовление 0,1 М раствора соляной кислоты.

Мерной пипеткой отбирают 4,1 $см^3$ концентрированной соляной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 500 $см^3$, куда предварительно наливают около 100 $см^3$ дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.2.3. Приготовление 5 % раствора гидрокарбоната натрия.

50 г гидрокарбоната 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.

7.2.3. Приготовление градуировочных растворов

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

Взвешивают 50 мг Пеноксулама 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 Пеноксулама 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 Пеноксулама 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 Пеноксулама 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 Пеноксулама 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 Пеноксулама с концентрацией 25,0; 10,0; 5,0; 2,5; 2,0; 1,0; 0,5; 0,4; и 0,2 мкг/$см^3$ для внесения в образцы.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 25,0; 10,0; 5,0; 2,5; 2,0; 1,0; 0,5; 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 Пеноксулама 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. 9.5. Осуществляют не менее 5-ти параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта

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.

7.4.1. Проверка хроматографического поведения Пеноксулама на колонке с окисью алюминия

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора Пеноксулама 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 смеси ацетонитрил–ледяная уксусная кислота в соотношении 99 : 1, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 см^3 и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу обмывают еще двумя порциями смеси ацетонитрил–ледяная уксусная кислота в соотношении 99 : 1 объемом 10 см^3 каждая и последовательно вносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы объемом по 100 см^3 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 Пеноксулам, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюента.

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

7.5. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С16 для очистки экстракта

7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С16 для очистки экстракта

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

Патрон Диапак С16 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 ацетонитрила с водой соотношении 1 : 1, затем 10 $см^3$ воды. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения Пеноксулама на концентрирующих патронах Диапак С16

Из стандартного раствора Пеноксулама в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 $см^3$ воды, перемешивают и 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 обмывают последовательно двумя порциями по 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 4, полученные растворы последовательно вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют.

Определяют фракции, содержащие Пеноксулам, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюента.

Изучение поведения Пеноксулама на концентрирующих патронах Диапак С16 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 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 21.08.79, а также в соответствии ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 1743.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 26950—89 «Почвы. Отбор проб», ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р 50436—92 (ИСО 950-79) «Зерновые. Отбор проб зерна» и ГОСТ 27262 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб».

Пробы воды хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С; пробы почвы – в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С.

Отобранные пробы зерна и соломки подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Для длительного хранения пробы почвы подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в темной таре в течение года. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

9. Проведение определений

Анализ образцов должен быть выполнен в течение одного дня.

9.1. Вода

9.1.1. Экстракция

Пробу воды объемом 200 $см^3$ помещают в делительную воронку объемом 500 $см^3$, прибавляют туда 20 г хлористого натрия, 2 $см^3$ 6 М соляной кислоты (до pH 1) и перемешивают до полного растворения соли. Пеноксулам экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира объемом по 50 $см^3$, встряхивая каждый раз делительную воронку 2 мин. По-

сле полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (диэтиловый эфир) объединяют в концентраторе объемом 250 см^3, собирая его через слой безводного сульфата натрия. Экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка на концентрирующих патронах Диапак С16

Сухой остаток, полученный в п. 9.1.1 растворяют в 2 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 см^3 воды, перемешивают и вносят на заранее подготовленный концентрирующий патрон Диапак С16. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3. Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 4, элюат объединяют с предыдущим 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 пробы вводят в хроматограф.

9.2. Почва

9.2.1. Экстракция

Пробу почвы весом 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 см^3, прибавляют туда 10 см^3 0,1 М соляной кислоты и выдерживают 5 мин при комнатной температуре. Пеноксулам экстрагируют 50 см^3 ацетона в течение 10 мин в ультразвуковой ванне и дополнительно 10 мин на механическом встряхивателе. Затем пробу центрифугируют в течение 5 мин при скорости 4 000 оборотов в минуту. Супернатант фильтруют через фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250 см^3 с 10 см^3 5 % раствора гидрокарбоната натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 см^3 ацетона и помещая каждый раз на 10 мин на механический встряхиватель. Пробы центрифугируют в течение 5 мин при скорости 4 000 оборотов в минуту, супернатант фильтруют. Экстракты объединяют в конической колбе объемом 250 см^3 с 10 см^3 5 % раствора гидрокарбоната натрия и перемешивают. Затем объединенный экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 см^3, остаток в колбе промывают 10 см^3 ацетона, фильтруют и объединяют с основным экстрактом. Экстракт упаривают до водного остатка **(осторожно, вспенивание!)** на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К водному остатку в концентраторе, полученному в п. 9.2.1 прибавляют 50 см^3 дистиллированной воды, 1 см^3 6 М соляной кислоты (до

pH 1), перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 см^3. Туда же прибавляют 10 г сухого хлорида натрия и интенсивно перемешивают до полного растворения соли. Пеноксулам экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира объемом по 25 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой диэтилового эфира объединяют в химическом стакане объемом 100 см^3, нижний водный слой отбрасывают. Эфирный слой возвращают в делительную воронку и экстрагируют Пеноксулам тремя порциями 5 % раствора гидрокарбоната натрия объемом по 20 см^3, интенсивно встряхивая делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой с эмульсией объединяют в химическом стакане объемом 100 см^3. Эфир отбрасывают.

Водный слой с эмульсией возвращают в делительную воронку и выдерживают до прозрачности нижнего водного слоя. Водный слой помещают в химический стакан объемом 100 см^3, выделившийся эфир отбрасывают. Водную фазу возвращают в делительную воронку, прибавляют туда 5 г сухого хлорида натрия и перемешивают до полного растворения соли. Затем содержимое воронки подкисляют 6 М соляной кислотой до pH 1 и дегазируют.

Пеноксулам экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира объемом по 30 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой диэтилового эфира объединяют в концентраторе объемом 250 см^3, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.2.3. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия и на концентрирующих патронах Диапак С16

Сухой остаток, полученный в п. 9.2.2 растворяют в 10 см^3 смеси ацетонитрил– ледяная уксусная кислота в соотношении 99 : 1, тщательно обмывают стенки концентратора, наносят на подготовленную колонку, элюат отбрасывают. Исходную колбу обмывают 10 см^3 смеси ацетонитрил–уксусная кислота в соотношении 99 : 1 и вносят на колонку. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток подвергают дальнейшей очистке на концентрирующих патронах Диапак С16, как указано в п. 9.1.2.

После очистки элюат выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ ацетонитрила и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Зерно риса

9.3.1. Экстракция

Образец измельченного зерна риса массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ смеси ацетон – 0,1 М соляная кислота в соотношении 9 : 1 и помещают на 10 мин в ультразвуковую ванну, а затем на 10 мин на механический встряхиватель. Пробу центрифугируют в течение 5 мин при скорости 4 000 оборотов в минуту и экстракт фильтруют в коническую колбу объемом 250 $см^3$ с 10 $см^3$ 5 % раствора гидрокарбоната натрия через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ смеси ацетон–0,1 М соляная кислота в соотношении 9 : 1, помещая на 10 мин на механический встряхиватель. Пробы центрифугируют в течение 5 минут при скорости 4 000 оборотов в минуту, супернатант фильтруют. Экстракты объединяют в конической колбе объемом 250 $см^3$ с 10 $см^3$ 5 % раствора гидрокарбоната натрия. Затем объединенный экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$, остаток в колбе промывают 10 $см^3$ ацетона, фильтруют и объединяют с основным экстрактом. Экстракт упаривают до водного остатка **(осторожно, вспенивание!)** на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и п. 9.2.3. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия и на концентрирующих патронах Диапак С16.

После очистки элюат выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 °$см^3$ ацетонитрила и 20 °$мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.4. Солома риса

9.4.1. Экстракция

Образец измельченной соломы риса массой 5 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 100 $см^3$ смеси ацетон–0,1 М соляная кислота в соотношении 9 : 1 и помещают на 10 мин в ультразвуковую ванну, а затем на 10 мин на механический встряхиватель. Экстракт фильтруют в коническую колбу объемом 500 $см^3$ с 20 $см^3$ 5 % раствора гидрокарбоната натрия через фильтр

«красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 70 см^3 смеси ацетон–0,1 М соляная кислота в соотношении 9 : 1 и помещая на 10 мин на механический встряхиватель. Экстракты фильтруют объединяют в конической колбе объемом 500 см^3 с 20 см^3 5 % раствора гидрокарбоната натрия. Затем объединенный экстракт фильтруют в колбу объемом 500 см^3, остаток в колбе промывают 15 см^3 ацетона, фильтруют и объединяют с основным экстрактом (общий объем экстрагента составляет при этом 275 см^3; для работы берут аликвоту объемом 55 см^3 – 20 % от объема). Экстракт упаривают до водного остатка **(осторожно, вспенивание!)** на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и п. 9.2.3. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия и на концентрирующих патронах Диапак С16.

После очистки элюат выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 5 см^3 ацетонитрила и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.5. 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: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода–ледяная уксусная кислота в соотношении 500 : 500 : 1.

Длина волны: 290 нм.

Время удерживания Пеноксулама: 8,563 мин ± 2 %.

Чувствительность не менее 0,0025 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 Пеноксулама рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Пеноксулама 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 Пеноксулама 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):

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

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

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta \frac{\bar{O}}{100}$$

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:

$$\tilde{N}_д = \Delta_{ë,\bar{O}} + \Delta_{ë,\bar{O}'}, \text{ где}$$

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

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$\hat{E}_ë = \bar{O}' - \bar{O} - \tilde{N}_д, \text{ где}$$

$\bar{O}'$, $\bar{O}$, $C_д$ среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11), содержания компо-

нента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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):

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

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.)

gost.e-ecolog.ru