Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тефлутрина в воде, почве, сахарной свекле, капусте, зеленой массе, семенах и масле кукурузы и подсолнечника методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2275—07

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тефлутрина в воде, почве, сахарной свекле, капусте, зеленой массе, семенах и масле кукурузы и подсолнечника методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2275-07

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г.Г. Онищенко

24 сентября 2007 г.

Дата введения: 10 декабря 2007 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

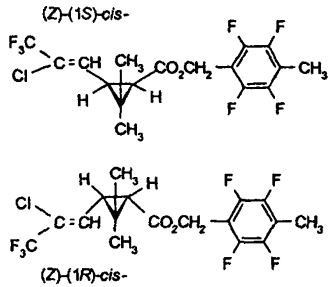
Определение остаточных количеств тефлутрина в воде, почве, сахарной свекле, капусте, зеленой массе, семенах и масле кукурузы и подсолнечника методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2275-07

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тефлутрина в воде в диапазоне 0,0005-0,005 мг/дм^3, в почве, капусте, масле кукурузы и подсолнечника в диапазоне 0,01-0,1 мг/кг, в ботве сахарной свеклы, зеленой массе подсолнечника и кукурузы в диапазоне 0,05-0,5 мг/кг, в корнеплодах сахарной свеклы, зерне кукурузы и семенах подсолнечника в диапазоне 0,005-0,05 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Тефлутрин

Название вещества по ИЮПАК: 2,3,5,6-тетрафтор-4-метилбензил(Z)- (1RS,3RS)-3-(2-хлор-3,3,3-трифторпроп-1-енил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат.



$C_{17}H_{14}ClF_7O_2$

Мол. масса: 418,7

Бесцветное твердое вещество без запаха. Температура плавления: 44,6°С. Давление паров при 20°С: 8,4 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 6,4.

Растворимость (г/дм^3) при 20°С: ацетон, гексан, толуол, дихлорметан, этилацетат – более 500, метанол – 263, вода - 0,00002.

Вещество стабильно при хранении на воздухе и не гидролизуется при pH 5-7 и слабо гидролизуется (9,7%) при pH 9 (экспозиция 30 дней).

В биологически активных почвах в аэробных условиях DT_{50} тефлутрина составляет 24 дня при 20^{0}С и 17 дней при 30°С.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 22-35 мг/кг, для мышей – 46-57 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - 117-316мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - 50 мг/м^3 воздуха.

Тефлутрин вызывает слабое раздражение глаз и кожи кролика. LC_{50} для рыб 60 – 130 нг/дм^3 (96 ч).

Инсектицид нетоксичен для птиц, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов и умеренно токсичен для пчел.

Гигиенические нормативы для тефлутрина в России:

ПДК в почве – 0,14 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,02 мг/дм^3; МДУ в сахарной свекле, семенах и масле кукурузы и подсолнечника – 0,05 мг/кг.

Область применения

Тефлутрин – инсектицид контактного и кишечного действия из группы синтетических пиретроидов. Он эффективно подавляет развитие комплекса почвенных вредителей (особенно из отрядов жёсткокрылых, двукрылых и чешуекрылых) таких культур, как кукуруза, сахарная свеклы, яровая пшеница, подсолнечник при норме расхода при почвен-

ном внесении 12–150 г/га, при протравливании семян 20–40 г/100 кг семян.

Проходит испытания в России и странах СНГ в качестве инсектицида для применения в посевах кукурузы, подсолнечника, сахарной свеклы, в посадках картофеля и капусты путём предпосевного протравливания семян или почвенного внесения.

1. Метрологические характеристики 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 таблице 1, для соответствующих диапазонов.

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности) ±δ, %	Стандартное отклонение повторяемости σ_r, %	Предел повторяемости r, %	Предел воспроизводимости R, %
Вода	менее 0,001	150	3,1	8,7	13,4
Почва	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	10,4	16,0
Кукуруза (зеленая масса)	от 0,05 до 0,1	50	2,9	8,1	12,6
Кукуруза (зерно)	от 0,005 до 0,01 вкл.	100	3,4	9,5	14,6
	более 0,01 до 0,05 вкл.	50	2,5	7,0	10,8
Кукуруза (масло)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,2	9,0	14,0
Свекла сахарная (ботва)	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,3	9,2	14,5
Свекла сахарная (корнеплоды)	от 0,005 до 0,01 вкл.	100	2,6	7,3	11,2
	более 0,01 до 0,05 вкл.	50	2,4	6,7	10,5
Подсолнечник (зеленая масса)	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,8	10,6	16,1
Подсолнечник (семена)	от 0,005 до 0,01 вкл.	100	2,9	8,1	12,6
	более 0,01 до 0,05 вкл.	50	2,3	6,4	10,0
Подсолнечник (масло)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,1	8,7	13,6
Капуста	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,0	8,4	13,2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для полного диапазона концентраций (n=20) приведены в таблице 2.

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для n=20, P=0,95

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/дм^3 мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3 мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего, %
Вода	0,0005	0,0005-0,005	90,4	3,6	±3,3
Почва	0,01	0,01 – 0,1	87,0	4,6	±4,3
Кукуруза (зеленая масса)	0,05	0,05-0,5	86,5	4,2	±4,2
Кукуруза (зерно)	0,005	0,005-0,05	87,3	3,4	±3,2
Кукуруза (масло)	0,01	0,01-0,1	83,5	3,3	±3,1
Свекла сахарная (ботва)	0,05	0,05-0,5	85,1	3,9	±4,0
Свекла сахарная (корнеплоды)	0,005	0,005-0,05	85,7	3,2	±3,0
Подсолнечник (зеленая масса)	0,05	0,05-0,5	86,6	4,8	±4,9
Подсолнечник (семена)	0,005	0,005-0,05	85,9	4,0	±3,7
Подсолнечник (масло)	0,01	0,01-0,1	85,1	3,1	±2,9
Капуста	0,01	0,01-0,1	86,9	3,9	±3,6

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронозахватным детектором (ЭЗД). Контроль тефлутрина в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции из воды гексаном, из почвы, ботвы и корнеплодов сахарной свеклы, кочанов капусты, зелёной массы и семян кукурузы и подсолнечника водным ацетоном, а из масла метанолом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонках с силикагелем и оксидом алюминия.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ЭЗД (СКБ «Хроматэк», Россия)	Номер Госреестра № 14516-95
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 250, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Тефлутрин, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,3% (Сингента, Швейцария)	
Ацетон, чда	ГОСТ 2603
Вода бидистиллированная	ГОСТ 6702
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166-76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233-77
Эфир диэтиловый медицинский	ГОСТ 6265

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), осч.	ГОСТ 9293
Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505

Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена	ГОСТ 5614
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы грушевидные на шлифе вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 9737
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8-10 мм	ГОСТ 9737
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10699
Оксид алюминия основной (Вельм, Германия) I степени активности для колоночной хроматографии	
Силикагель (0,063-0,2 мм) для адсорбционной хроматографии (Мерк, Германия) I степени активности	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М2 или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-1173.102-84
Установка для перегонки растворителей	
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6-09-2678-77
Холодильник водяной обратный	ГОСТ 9737
Хроматографическая колонка стеклянная, длиной 2 м, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Хромосорб W/HP (0,12-0,15 мм) с 3% SE-30	
Центрифуга Т-23 (Janetzki, Германия) или аналогичная	
Шприц для ввода образцов в газовый хроматограф вместимостью 10 $мм^3$	ТУ 64-1-2850

Допускается применение 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 газовый хроматограф.

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

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя с опытом работы на газовом 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 $(20+5)^0$С и относительной влажности не более 80%.
- выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

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

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения ее окрашивания в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.2. Очистка диэтилового эфира

Растворитель предварительно встряхивают со свежеприготовленным раствором железного купороса, а затем последовательно промывают 0,5%-ным раствором перманганата калия, 5%-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

7.2. Подготовка колонок с силикагелем и оксидом алюминия для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 3 г силикагеля в

15 см^3 смеси гексана и диэтилового эфира (85:15, по объему) или суспензию 5 г оксида алюминия основного в 20 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонки промывают 15 см^3 гексана со скоростью 1-2 капли в сек., после чего они готовы к работе.

7.3. Проверка хроматографического поведения тефлутрина на колонках с силикагелем и оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 градуировочного раствора №1 тефлутрина с концентрацией 1 мкг/см^3 в гексане (п. 7.5.2), отдувают растворитель током азота, остаток растворяют в 3 см^3 гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонки с силикагелем и оксидом алюминия, подготовленные по п. 7.2. Колонки промывают 30 см^3 гексана со скоростью 1-2 капли в сек, который отбрасывают. Затем колонку с силикагелем промывают 25 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (85:15, по объему), а колонку с оксидом алюминия 25 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (80:20, по объему). Фракционно (по 5 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см^3 гексана и анализируют на содержание тефлутрина по п. 9.5.

7.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Засыпают готовую насадку (3% SE-30 на Хромосорбе W/HP) в стеклянную колонку и уплотняют под вакуумом. Колонку устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 250°С и скорости газа-носителя 2,5 см^3/мин в течение 8-10 часов.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходный раствор тефлутрина для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,010 г тефлутрина, растворяют в 40-50 см^3 гексана, доводят гексаном до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше – 18°С в течение 3-х месяцев.

7.5.2. Раствор тефлутрина №1 для градуировки (концентрация 1 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного раствора тефлутрина с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.5.1), разбавляют гексаном до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

При оценке полноты извлечения тефлутрина для внесения в образцы используют ацетоновые растворы с концентрацией 1 мкг/см^3. Для этого в мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного раствора тефлутрина с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.5.1), разбавляют ацетоном до метки, тщательно перемешивают.

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

7.5.3. Рабочие растворы №№ 2-5 тефлутрина для градуировки (концентрация 0.005 – 0.05 мкг/см^3)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 0.5, 1.0, 2.5 и 5,0 см^3 градуировочного раствора № 1 тефлутрина с концентрацией 1 мкг/см^3 (п. 7.5.2), доводят до метки гексаном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией тефлутрина 0.005, 0.01, 0.025 и 0.05 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед употреблением.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ*с) от концентрации тефлутрина в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 2 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 7.5.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79) и правилами, определенными ГОСТами Р 51592-2000 “Вода. Общие требования к отбору проб”, 1743.01-83 “Почвы. Общие требования к отбору проб”, 26950-89 “Поч-

вы. Отбор проб", 17421-82 "Свекла сахарная для промышленной переработки. Требования при заготовках", Р 50436-92 "Зерновые. Отбор проб зерна", 10852-86 "Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб", 26768-85 «Капуста белокочанная свежая. Технические условия» и 1724-85 «Капуста белокочанная. Технические условия».

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

Образцы почвы подсушивают на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре 4-6°С не более 4-х недель. Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре –18°С.

Пробы зеленой массы кукурузы и подсолнечника, кочанов капусты, ботвы и корнеплодов сахарной свеклы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 1 дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при –18°С.

Пробы зерна и семян высушивают до стандартной влажности и хранят в холодильнике при температуре 4°С.

Масло хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 4-6°С.

Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, образцы почвы просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм, зерно и семена размалывают на мельнице, а зеленую массу измельчают ножом.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция тефлутрина

9.1.1. Вода. Образец отфильтрованной воды объемом 100 см^3 помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3. В воронку вносят 20 см^3 гексана, интенсивно встряхивают воронку в течение 2-х минут. После полного разделения фаз верхний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажной фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 20 см^3 гексана. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха при температуре не выше 25°С. Остаток в колбе растворяют в 1 см^3 гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание тефлутрина по п. 9.5.

9.1.2. Почва. Образец воздушно-сухой почвы массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетон-вода (80:20, по объему) и помещают на ультразвуковую баню на 5 минут.

Раствор (с осадком почвы) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 смеси ацетон-вода (80:20, по объему). Экстракт и промывную жидкость, объединенные в мерном цилиндре, перемешивают, измеряют объем раствора, 1/10 его часть (эквивалентную 2 г образца) переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.3. Зерно, семена. Образец размолотого зерна или семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 70 см^3 смеси ацетон-вода (80:20, по объему) и помещают на встряхиватель на 40 минут.

Раствор (с осадком) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 35 см^3 смеси ацетон-вода (80:20, по объему). Экстракт и промывную жидкость, объединенные в мерном цилиндре, перемешивают, измеряют объем раствора, 1/5 его часть (эквивалентную 2 г образца) переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.4. Зеленая масса, ботва, корнеплоды, кочаны. Образец растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетон-вода (80:20, по объему) и гомогенизируют 3 мин. при 10000 об/мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 смеси ацетон-вода (80:20, по объему). Экстракт и промывную жидкость, объединенные в мерном цилиндре, перемешивают, измеряют объем раствора, 1/10 его часть (эквивалентную 2 г образца) переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.5. Масло. Образец масла массой 5 г вносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, добавляют 10 см^3 гексана, перемешивают. В воронку вносят 40 см^3 метанола, интенсивно встряхивают воронку в течение 3-х мин. После полного разделения фаз верхний метанольный слой отделяют и собирают в мерный цилиндр вместимостью 250 см^3. Операцию экстракции масляной фазы повторяют еще дважды, используя по 30 см^3 метанола. Измеряют объем объединенной метанольной

фазы и последнюю центрифугируют 5 мин. при 6000 g. Из надосадочной части отбирают 1/5 объема метанольной фазы (эквивалентна 1 г образца) и переносят в круглодонную колбу. Экстракт в круглодонной колбе упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 25°С. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.4.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракт, полученный по пп. 9.1.2, 9.1.3 и 9.1.4 и помещенный в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (2-3 $см^3$) при температуре не выше 25°С, внимательно следя за процессом и не допуская переброса жидкости при вспенивании. К водному остатку прибавляют 10 $см^3$ бидистиллированной воды, 10 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. В воронку вносят 10 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают воронку в течение 2-х мин. После разделения фаз верхний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 10 $см^3$ гексана. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха при температуре не выше 25°С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2, растворяют при помощи ультразвуковой ванны в 4 $см^3$ гексана и 2 $см^3$ полученного раствора наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 7.2. Колонку промывают 25 $см^3$ гексана со скоростью 1-2 капли в секунду, который отбрасывают. Тефлутрин элюируют с колонки 15 $см^3$ смеси гексан-диэтиловый эфир (85:15, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 25°С. Сухой остаток экстрактов корнеплодов свеклы, семян подсолнечника и кукурузы растворяют при помощи ультразвуковой ванны в 1 $см^3$ гексана, экстрактов почвы и капусты в 2 $см^3$, ботвы и зеленой массы в 10 $см^3$ гексана и анализируют на содержание тефлутрина по п. 9.5.

9.4. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.1.5, растворяют в 3 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают дважды порциями по 3 $см^3$ гексана, которые также наносят на колонку. Колонку промывают 25 $см^3$ гексана со скоростью 1-2 капли в сек., который отбрасывают. Тефлутрин элюируют с колонки 15 мл смеси гексан-диэтиловый эфир (80:20, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 25°С. Остаток в колбе растворяют в 2 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание тефлутрина по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

9.5.1. Метод ГЖХ с насадочной колонкой

Газовый хроматограф "Кристалл 2000 М" с электронозахватным детектором с пределом детектирования по линдану не выше $8{,}2\times10^{-15}$ $г/см^3$

Колонка хроматографическая, стеклянная, 2000х2 мм, неподвижная фаза - 3% SE-30 на Хромосорбе W/HP (0,12–0,15 мм)

Температура испарителя - 200°С, термостата колонки - 170°С, детектора -300°С

Скорость потока газа-носителя (азот) - 30 $см^3$/мин

Объем вводимой пробы - 2 $мм^3$

Время удерживания тефлутрина - 2 мин 55 с – 2 мин 58 с.

Предел детектирования - 0,01 нг

Линейный диапазон детектирования: 0,01–0,2 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,05 мкг/$см^3$, разбавляют гексаном.

9.5.2. Метод ГЖХ с капиллярной колонкой

Газовый хроматограф "Кристалл 2000 М" с электронозахватным детектором с пределом детектирования по линдану не выше $8{,}2\times10^{-15}$ $г/см^3$

Колонка капиллярная кварцевая ZB-1, длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина плёнки 0,5 мкм, неподвижная фаза SE-30, фирма Phenomenex (США)

Температура термостата испарителя - 200°С, детектора -300°С, термостата колонки (программа: 120°С – 2 мин.; 15°/мин до 175°С, выдержка – 10 мин.)

Газовый режим: газ-носитель – азот, расход – 4,0 $см^3$/мин

Деление потока: без деления

Объем вводимой пробы - 1 $мм^3$

Время удерживания тефлутрина – 13 мин 05 с.

Предел детектирования - 0,005 нг

Линейный диапазон детектирования: 0,005–0,1 нг

10. Обработка результатов анализа

Содержание тефлутрина рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}, \text{ где}$$

X - содержание тефлутрина в пробе, мг/$дм^3$, мг/кг;

H_1 - площадь пика образца, мВ*с;

H_0 - площадь пика стандарта, мВ*с;

A - концентрация стандартного раствора тефлутрина, мкг/$см^3$;

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

m - масса анализируемой части образца ($см^3$, г) /для воды – 200 $см^3$, для почвы, зелёной массы, семян, зерна и масла - 1 г./.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r \qquad (1)$$

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/кг;

r- значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\overline{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности P= 0.95,

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

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

В случае если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

< 0,0005 мг/дм^3 для воды, < 0,005** мг/кг для корнеплодов сахарной свеклы, зерна кукурузы и семян подсолнечника, < 0,01 мг/кг*** для почвы, капусты, масла кукурузы и подсолнечника, < 0,05**** мг/кг для ботвы свеклы, зеленой массы кукурузы и подсолнечника.*

** 0,0005 мг/кг - предел обнаружения для воды.*

*** 0,005 мг/кг - предел обнаружения для корнеплодов сахарной свеклы, зерна кукурузы и семян подсолнечника*

**** 0,01 мг/кг – предел обнаружения для почвы, капусты, масла кукурузы и подсолнечника.*

***** 0,05 мг/кг – предел обнаружения для ботвы свеклы, зеленой массы кукурузы и подсолнечника.*

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 с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

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

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ - среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

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

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($К_к$) с нормативом контроля (К).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

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)

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

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

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

gost.e-ecolog.ru