Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ.

Определение остаточных количеств химических веществ в продуктах питания и сельскохозяйственной продукции

Сборник методических указаний
МУК 4.1.2293—07
МУК 4.1.2350—08

Издание официальное

Москва • 2008

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 химических веществ в продуктах питания и сельскохозяйственной продукции

Сборник методических указаний
МУК 4.1.2293—07
МУК 4.1.2350—08

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств химических веществ в продуктах питания и сельскохозяйственной продукции: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.—36 с.

ISBN 5—7508—0732—0

1. Разработаны Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (Т. В. Юдина, Н. Е. Федорова, Л. В. Горячева).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 2 от 21 июня 2007 г).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 10 октября 2007 г.

4. Введены в действие с 28 декабря 2007 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Технический редактор Н. А. Волкова

Подписано в печать 22 10.08

Формат 60x88/16 Печ л 2,0

Тираж 100 экз Заказ 62

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер , д 18/20

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, 2008
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008

Содержание

Определение остаточных количеств клопиралида в кукурузном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2293—07 4

Определение остаточных количеств диквата в зерне гороха, семенах рапса и подсолнечника, растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2350—08 19

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
29 февраля 2008 г.
Дата введения: 18 мая 2008 г.

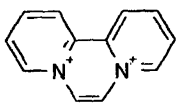
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ.

Определение остаточных количеств диквата в зерне гороха, семенах рапса и подсолнечника, растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

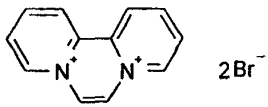
Методические указания
МУ 4.1.2350—08

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в зерне гороха, семенах рапса и подсолнечника, растительных маслах массовой концентрации диквата в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Дикват
1,1'-этилен-2,2`-дипиридилий; 9,10-дигидро-8а,10а-диазонийфенантрен; (ИЮПАК)



$C_{12}H_{12}N_2$ Мол. масса 184,2
1,1'-этилен-2,2'-дипиридилий используется в виде дибромида:
1.1-этилен-2,2-дипиридилий дибромид (ИЮПАК)



$C_{12}H_{12}N_2Br_2$ Мол. масса 344,1

Химически чистый дикват дибромид представляет собой гигроскопическое белое кристаллическое вещество с температурой разложения 300 °С. Давление паров: менее 0,01 мПа (моногидрат). Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 4,60.

Хорошо растворим в воде (700 г/л), плохо в спиртах и практически нерастворим в неполярных органических растворителях.

Вещество стабильно в нейтральном и кислом растворах, но легко гидролизуется в щелочной среде. Разлагается под действием УФ-облучения (DT_{50} менее недели).

Сильно связывается почвами и быстро разрушается почвенными микроорганизмами (DT_{50} не адсорбированного диквата менее недели).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 408, для мышей – 234 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 800 мг/кг. Вызывает раздражение кожи и глаз у кроликов. Мало токсичен для птиц, рыб, пчел, дождевых червей и водорослей.

МДУ в горохе – 0,05 мг/кг, семенах подсолнечника – 0,5 мг/кг, подсолнечном масле – 0,1 мг/кг; ВМДУ в семенах рапса – 0,5 мг/кг, масле рапса – 0,1 мг/кг.

Область применения препарата

Дикват дибромид – контактный гербицид сплошного действия. Используется для уничтожения однолетних широколистных сорняков в виноградниках, садах, посевах овощных и декоративных культур, водной растительности в водоемах, а также для предуборочной десикации семенников сахарной свеклы, клевера, сорго, подсолнечника, льна, хлопчатника, рапса, сои, риса. Применяется в дозах от 0,4 до 1,0 кг/га.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и её составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P = 0,95 не превышает значений, приведенных в таблице 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

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, %
Горох	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	6,8	19	22
	более 0,1 до 0,5	25	6,3	17	21
Семена рапса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	7,7	21	25
	более 0,1 до 0,5	25	6,8	19	22
Семена подсолнечника	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	8,5	23	28
	более 0,1 до 0,5	25	8,0	22	26
Растительное масло	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	7,5	21	25
	более 0,1 до 0,5	25	7,3	20	24

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

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций мг/кг	среднее значение определения %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Горох	0,05	0,05—0,5	83,9	4,9	6,8
Семена рапса	0,05	0,05—0,5	84,3	5,6	7,8
Семена подсолнечника	0,05	0,05—0,5	84,3	6,1	8,5
Растительное масло	0,05	0,05—0,5	88.7	5.7	7,9

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после экстракции из анализируемых проб серной кислотой при кипячении, очистки экстрактов на колонке с катионитом, а также на патроне для твердофазной экстракции С18 Sep Pak.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США)	Номер Госреестра 5945—97
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 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 2-500-2, 2-1 000-2	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 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности, вместимостью 10, 25, 50, 100, 200, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Дикват дибромид (моногидрат) с содержанием д.в. 99,7 % (50,9 % катионов) (Зенека, Великобритания)	
Аммония хлорид, хч	ГОСТ 3773
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-4326— 76
Ацетон, чда	ГОСТ 2603
Вода дистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6702

н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Диэтиламин для хроматографии, в ампулах	ТУ 6-09-4356—77
Катионообменная смола Дауэкс 50 (50—100 меш), Na-форма (фирмы «Серва», Германия) или Дауэкс 50 WX8 (100—200 меш), Na-форма (фирмы «Флука», Швейцария)	
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204
Кислота соляная (хлороводородная), хч	ГОСТ 3118
Кислота ортофосфорная, хч	
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрия гидроксид (едкий натр), хч	ГОСТ 4236
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
1-октансульфонат натрия	
Этилендиамин-N,N,N',N'-тетрауксусная кислота, динатриевая соль (Трилон Б)	ГОСТ 10652

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678—77
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронка делительная вместимостью 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30—37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	
Груша резиновая	
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9773
Индикаторная бумага универсальная	
Колбонагреватель электрический или электрическая плитка	ТУ 92-275—76
Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 400—500 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 500 и 2 000 $см^3$	ГОСТ 9737
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 10 мм	
Мельница электрическая	
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	

Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Стаканы химические, вместимостью 100, 500 и 2 000 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Патроны для твердофазной экстракции Sep Pak C18 Classic WAT051910 (Waters, США)	
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник водяной обратный	ГОСТ 9737
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 2,0 мм, содержащая Spherisorb S5 ODS 2, зернением 5 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—100 $мм^3$	
Шприц медицинский с разъемом Льюера	ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1005.

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе.

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 измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка ацетонитрила (при необходимости), приготовление растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с катионитом и патронов для очистки экстрактов.

7.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Приготовление 0,3 М раствора гидроксида натрия

Навеску гидроксида натрия массой 3 г помещают в мерную колбу вместимостью 250 см^3, растворяют в 100—150 см^3 дистиллированной воды, доводят водой до метки, перемешивают.

7.3. Приготовление 2,5%-го раствора хлорида аммония

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 25 г хлорида аммония, растворяют в 600—700 см^3 дистиллированной воды, доводят водой до метки, перемешивают.

7.4. Приготовление 5%-го раствора этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТУ)

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 50 г двунатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты, растворяют в 600—700 см^3 дистиллированной воды, доводят водой до метки, перемешивают.

7.5. Приготовление 2 н соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 500 см^3 дистиллированной воды, вносят 167 см^3 концентрированной соляной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

7.6. Подготовка колонки с катионитом

Навеску катионита Дауэкс 50 в натриевой форме массой 10 г помещают в стакан вместимостью 100 см^3, заливают 40—25 см^3 воды. Через 30 мин суспензию переносят в хроматографическую колонку длиной 25 см, внутренним диаметром 10 мм, нижняя часть, которой уплотнена

тампоном из стекловаты. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, затем колонку последовательно промывают 20 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия и 50 $см^3$ дистиллированной воды со скоростью 3—5 $см^3$/мин, после чего она готова к работе.

Примечание. При отсутствии катионита в натриевой форме используют ионообменную смолу в H^+-форме, подготовив ее по следующей методике.

Образец катионита Дауэкс 50 в H^+-форме помещают в химический стакан, заливают 5-кратным (по объёму) количеством дистиллированной воды и оставляют для набухания на 24 ч. После этого воду декантируют, катионит обрабатывают 2 н водным раствором гидроксида натрия при перемешивании в течение 2 ч. Затем раствор декантируют и смолу многократно промывают водой до нейтральной реакции. Отмытый катионит переносят на воронку Бюхнера, отфильтровывают и подсушивают до сыпучего состояния.

7.7. Подготовка патрона C18 Sep Pak для очистки экстрактов

Концентрирующий патрон промывают с помощью медицинского шприца 2 $см^3$ метанола со скоростью прохождения растворителя через патрон 10—20 $см^3$/мин (время пропускания растворителя через патрон составляет около 10 с). Патрон подготавливают непосредственно перед использованием для очистки экстракта.

7.8. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 405 $см^3$ деионизованной воды, 95 $см^3$ ацетонитрила, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр. В раствор вносят 5 $см^3$ ортофосфорной кислоты, 5 $см^3$ диэтиламина, 0,5 г октансульфоната натрия, перемешивают и помещают на ультразвуковую баню на 2 мин.

7.9. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.8) при скорости подачи растворителя 0,3 $см^3$/мин не менее 2 часов до установления стабильной базовой линии.

7.10. Приготовление градуировочных растворов

7.10.1. Исходный раствор диквата для градуировки (концентрация катиона диквата 1 мг/$см^3$) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,1965 г диквата дибромида моногидрата (молекулярная масса 362,1, содержание катиона 50,9 %), растворяют в 40—50 $см^3$ насыщенного водного раствора хлорида аммония, доводят насыщенным раствором хлорида аммония до метки, тщательно перемешивают.

7.10.2. Раствор диквата № 1 для градуировки и внесения (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора диквата с концентрацией 1 мг/см^3 (п. 7.10.1), разбавляют насыщенным раствором хлористого аммония до метки.

Этот раствор используют для приготовления проб зерна гороха, семян рапса и подсолнечника с внесением при оценке полноты извлечения диквата из исследуемых образцов, а также контроле качества результатов измерений методом добавок. Для внесения в образцы растительного масла используют раствор с концентрацией 100 мкг/см^3, приготовленный в смеси 2,5 %-ный раствор хлорида аммония–изопропанол (1 : 9, по объему).

7.10.3. Раствор диквата № 2 для градуировки (концентрация 5 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 5 см^3 раствора № 1 с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.10.2), разбавляют насыщенным раствором хлористого аммония до метки.

Растворы хранят при комнатной температуре в темноте в течение 12-ти месяцев.

7.10.4. Рабочие растворы № 3—7 диквата для градуировки (концентрация 0,05—0,5 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0, 2,0, 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 2 с концентрацией 5 мкг/см^3 (п. 7.10.3), доводят до метки насыщенным раствором хлорида аммония, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 3—7 с концентрацией диквата 0,05, 0,1, 0,25 и 0,5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранят при комнатной температуре в темноте.

7.11. Установление градуировочной характеристики

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

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

8. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ 28674—90 «Горох. Требования при заготовках и поставках», 5312- -90 «Горох овощной свежий для консервирования. Техниче-

ские условия», 10583—76 «Рапс. Требования при заготовках и поставках», 22391—89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79).

Пробы зерна гороха, семян рапса и подсолнечника (помещенные в тканевую или бумажную упаковку) хранят в темноте при комнатной температуре, образцы растительного масла (помещенные в стеклянные флаконы) – в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 3-х месяцев.

Перед анализом образцы гороха, семян рапса и подсолнечника измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Зерно гороха, семена рапса и подсолнечника

Образец измельченного зерна гороха, семян рапса или подсолнечника массой 50 г помещают в круглодонную колбу вместимостью 2 000 $см^3$, вносят 450 $см^3$ (при исследовании зерна гороха) или 475 $см^3$ (при исследовании семян рапса и подсолнечника) деионизованной воды. Осторожно приливают 15 $см^3$ концентрированной серной кислоты. Колбу с подсоединённым к ней обратным холодильником и ёлочным дефлегматором помещают на электрический колбонагреватель и кипятят её содержимое в течение 5 ч. Реакционную массу охлаждают. На этой стадии можно оставить раствор на ночь. Остывшую суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через фильтр из хроматографической бумаги Ватман 3 ММ (или бумажный фильтр «красная лента» в 2 слоя), отсасывая осадок почти досуха. Осадок на фильтре промывают двумя порциями дистиллированной воды по 100 $см^3$ (при этом, вторую порцию воды вносят только после того, как первая полностью прошла через воронку). Переливают фильтрат в химический стакан вместимостью 2 $дм^3$, доводят pH до 8—9 (по индикаторной бумаге) порционным добавлением твердого гидроксида натрия (20—25 г) при постоянном перемешивании, не допуская нагревания раствора. Добавляют 50 $см^3$ раствора ЭДТУ (приготовленного по п. 7.4), перемешивают, контролируют pH раствора (по индикаторной бумаге), если его значение выходит из диапазона 6—7, доводят его значение до указанных показателей, добавляя по каплям растворы ЭДТУ или гидроксида натрия. Снова фильт-

руют раствор под вакуумом на воронке Бюхнера через фильтр из хроматографической бумаги Ватман 3 ММ (или бумажный фильтр «красная лента» в 2 слоя), промывая стакан и фильтр 100 $см^3$ дистиллированной воды. Фильтраты объединяют, доводят общий объем раствора до 1 $дм^3$ и подвергают очистке по п. 9.2 и 9.3.

9.1.2. Растительное масло

Образец масла массой 50 г помещают в круглодонную колбу вместимостью 2 000 $см^3$, вносят 475 $см^3$ деионизованной воды. Осторожно приливают 15 $см^3$ концентрированной серной кислоты. Колбу с подсоединённым к ней обратным холодильником и ёлочным дефлегматором помещают на электрический колбонагреватель и кипятят её содержимое в течение 5 час. Реакционную массу охлаждают. На этой стадии можно оставить раствор на ночь. Остывший раствор переносят в делительную воронку вместимостью 1 000 $см^3$, нижний водный слой отделяют, помещая в химический стакан вместимостью 2 $дм^3$, доводят pH до 8—9 (по индикаторной бумаге) порционным добавлением твердого гидроксида натрия (около 24 г) при постоянном перемешивании, не допуская нагревания раствора. Добавляют 50 $см^3$ раствора ЭДТУ (приготовленного по п. 7.4), перемешивают, контролируют pH раствора (по индикаторной бумаге), если его значение выходит из диапазона 6—7, доводят его значение до указанных показателей, добавляя по каплям растворы ЭДТУ или гидроксида натрия. Фильтруют раствор под вакуумом на воронке Бюхнера через фильтр из хроматографической бумаги Ватман 3 ММ (или бумажный фильтр «красная лента» в 2 слоя), промывая стакан и фильтр 100 $см^3$ дистиллированной воды. Фильтраты объединяют, доводят общий объем раствора до 1 $дм^3$ и подвергают очистке по п. 9.2 и 9.3.

9.2. Очистка экстракта на колонке с катионитом

Объединённый фильтрат, полученный по п. 9.1.1 или 9.1.2, вводят со скорость 5 $см^3$/мин с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, в хроматографическую колонку, подготовленную по п. 7.6. С этой целью фильтрат переносят в делительную воронку, помещенную над колонкой, устанавливают (регулируя кран) скорость пропускания раствора 5 $см^3$/мин. При этом, носик колонки с помощью стеклянной трубки, имеющей отвод для вакуума, соединяют с колбой Бунзена, в которую собирается фильтрат. Для облегчения введения пробы в колонку раствор предварительно охлаждают в холодильнике (при возможности всю операцию очистки на колонке проводят в холодной ком-

нате), верхний слой сорбента в колонке по мере его уплотнения взмучивают с помощью стеклянной палочки. После введения пробы колонку последовательно промывают (с использованием разряжения, создаваемого водоструйным насосом) 25 $см^3$ воды, 50 $см^3$ 2 н хлороводородной кислоты, 25 $см^3$ воды, 100 $см^3$ 2,5 %-го раствора хлорида аммония и 25 $см^3$ воды, которые отбрасывают. На этой стадии можно оставить колонку на ночь, при условии, что слой ионообменной смолы покрыт раствором. Дикват элюируют из колонки 50 $см^3$ насыщенного раствора хлорида аммония со скоростью не более 1 $см^3$/мин в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$. Раствор перемешивают.

9.3. Очистка экстракта на патроне C18 Sep Pak

Аликвоту раствора, полученного по п. 9.2, объемом 10 $см^3$ вносят с помощью медицинского шприца на концентриующий патрон C18 Sep Pak, подготовленный по п. 7.7. Скорость прохождения раствора через патрон должна составлять 10—20 $см^3$/мин (время прохождения раствора через патрон 40—60 с). Первые 5 $см^3$ элюата отбрасывают, вторую порцию объемом 5 $см^3$ собирают в градуированную пробирку с пришлифованной пробкой, перемешивают и анализируют на содержание диквата по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирмы Perkin-Elmer, США)

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Spherisorb S5 ODS 2, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (19 : 81, по объему)
+ 0,1 % (вес/объем) 1-октансульфонат натрия
+ 1,0 % (по объему) диэтиламин
+ 1,0 % (по объему) ортофосфорная кислота

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

Рабочая длина волны: 310 нм

Чувствительность: 0,01 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Ориентировочное время выхода диквата: 4,7—6,2 мин

Линейный диапазон детектирования 1—10 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор диквата с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют насыщенным раствором хлористого аммония (не более чем в 50 раз).

Примечание. Ежедневно после завершения работы колонку необходимо промывать не менее 30 мин подвижной фазой метанол–вода (9 : 1, по объему), затем водой. Не рекомендуется оставлять на ночь в хроматографической системе фазу, содержащую комплекс ион-парных реагентов. Ежедневно перед началом работы до ввода в инжектор градуировочного раствора хроматографируют насыщенный раствор хлорида аммония. Эту операцию рекомендуется также осуществлять в течение рабочего дня после 4—5 вводов аналитических образцов или градуировочных растворов.

После осуществления 5—6 вводов образцов необходимо хроматографировать аналитический стандарт.

Содержание диквата в пробе сопоставительно оценивают по площади хроматографического пика градуировочного раствора аналитического стандарта (введенного в инжектор непосредственно после хроматографирования исследуемого образца).

10. Обработка результатов анализа

Содержание диквата в пробе (X, мг/кг, дм^3) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot S_{пр} \cdot W}{S_{ст.} \cdot P}, \text{ где}$$

A – концентрация диквата в градуировочном растворе, мкг/см^3;

$S_{пр.}$ – площадь (высота) пика исследуемой пробы, отн. ед.;

$S_{ст.}$ – площадь (высота) пика аналитического стандарта, отн. ед.;

W – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

P – масса анализируемого образца, 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):

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

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;

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

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

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание диквата в пробе менее 0,05 мг/кг»**

** – 0,05 мг/кг – предел обнаружения.*

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Контрольный параметр процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

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

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

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

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

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

14. Разработчики

Т. В. Юдина, Н. Е. Федорова, В. Н. Волкова (Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана).

gost.e-ecolog.ru