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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2917—4.1.2919—11; 4.1.2926—11; 4.1.2936—11

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21+51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—91 с.

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

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

3. Введены в действие с момента утверждения.

4. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

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

Содержание

Определение остаточных количеств Тритиконазола в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2917—11 4

Определение остаточных количеств Хлорпирифоса в зерне и соломе пшеницы, яблоках и яблочном соке, семенах и масле рапса, клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2918—11 21

Определение остаточных количеств Аминопиралида в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2919—11 41

Определение остаточных количеств Хлорпирифос-метила в зеленой массе и корнеплодах сахарной свеклы, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2926—11 63

Определение остаточных количеств эмамектина (эмамектина бензоата) в яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2936—11 79

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

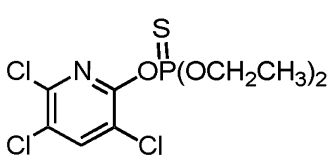
Определение остаточных количеств Хлорпирифоса в зерне и соломе пшеницы, яблоках и яблочном соке, семенах и масле рапса, клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.2918—11

Свидетельство о метрологической аттестации № 0071.06.12.10 от 08.12.2010.

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств Хлорпирифоса в зерне пшеницы, яблоках и яблочном соке, семенах и масле рапса, клубнях картофеля в диапазоне 0,005—0,05 мг/кг, в соломе пшеницы в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Название по ИЮПАК: O,O-диэтил O-(3,5,6-трихлоро-2-пиридил) фосфоротиоат.



Эмпирическая формула: $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$.
Молекулярная масса: 350,6.
Агрегатное состояние: кристаллическое вещество.
Цвет, запах: бесцветное.
Давление насыщенного пара: 2,7 мПа (при 25 °С).
Коэффициент распределения в системе октанол/вода: $K_{ow}\log P = 4,7$.

Растворимость в воде: 1,4 мг/дм^3 (25 °С).

Растворимость в органических растворителях (г/кг, при 25 °С): в бензоле – 7 900, ацетоне – 6 500, хлороформе – 6 300, диэтиловом эфире – 5 100, ксилоле – 4 000, этаноле – 630.

Хлорпирифос устойчив в нейтральной и кислой средах, относительно быстро гидролизуется в щелочной среде. Период полураспада в почве: $ДТ_{50}$ от 60 до 120 дней.

Краткая токсикологическая характеристика: Хлорпирифос относится к веществам опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс от 135 до 163 мг/кг), мало опасным веществам по дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг) и чрезвычайно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ (4 ч) для крыс 200 мг/м^3 воздуха).

Область применения: Хлорпирифос – инсектицид контактного и кишечного действия из группы фосфорорганических соединений, обладающий длительным защитным эффектом. Он эффективно подавляет развитие вредителей из отрядов жесткокрылых, перепончатокрылых, прямокрылых, двукрылых и чешуекрылых (имаго и личинки), а также почвообитающих вредителей.

Применяется для борьбы с грызущими насекомыми с нормой расхода 0,38—1,2 кг д.в. на га в зависимости от культуры в посевах зерновых и овощных культур, кукурузы, хлопчатника, на плантациях картофеля, плодовых культур.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,0003 мг/кг массы человека; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,3 мг/м^3; ПДК в атмосферном воздухе – 0,0002 мг/м^3; ПДК в воде водоема – 0,002 мг/дм^3; ПДК в почве – 0,2 мг/кг; ВМДУ (мг/кг): в кукурузе – 0,0006, в свекле сахарной – 0,005, в хлопчатнике (семена, масло) – 0,0005; МДУ (мг/кг): в картофеле и яблоках – 0,005, в зерне и соломе пшеницы – 0,01, в яблоках и яблочном соке – 0,5, в семенах и масле рапса – 0,05.

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 Хлорпирифоса

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, %
Зерно пшеницы	0,005—0,01	100	3,56	9,90	11,78
	0,01—0,05	50	1,91	5,31	6,32
Солома пшеницы	0,05—0,1	50	2,85	7,92	9,43
	0,1—0,5	25	1,98	5,50	6,55
Яблоки	0,005—0,01	100	3,56	9,90	11,78
	0,01—0,05	50	3,52	9,79	11,65
Яблочный сок	0,005—0,01	100	2,68	7,45	8,87
	0,01—0,05	50	2,56	7,12	8,47
Семена рапса	0,005—0,01	100	2,71	7,53	8,97
	0,01—0,05	50	2,98	8,28	9,86
Масло рапса	0,005—0,01	100	2,99	8,31	9,90
	0,01—0,05	50	3,26	9,06	10,79
Клубни картофеля	0,005—0,01	100	4,71	13,09	15,59
	0,01—0,05	50	2,71	7,53	8,97

Таблица 2

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

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, ±, %
Зерно пшеницы	0,005	0,005—0,05	84,98	2,70	1,08
Солома пшеницы	0,05	0,05—0,5	86,36	2,21	0,90
Яблоки	0,005	0,005—0,05	83,91	3,16	1,24
Яблочный сок	0,005	0,005—0,05	76,74	2,19	0,79
Семена рапса	0,005	0,005—0,05	84,79	2,46	0,97
Масло рапса	0,005	0,005—0,05	82,34	3,22	1,24
Клубни картофеля	0,005	0,005—0,05	78,15	3,22	1,18

2. Метод измерения

Метод основан на определении Хлорпирифоса методом капиллярной ГЖХ с использованием детектора по захвату электронов после экстракции его из образцов ацетонитрилом, очистки экстракта путем перераспределения между двумя несмешивающимися фазами, на колонках с окисью алюминия и Флоризилом.

Идентификация проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность метода достигается за счет подбора колонки и условий программирования.

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 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц для газовой хроматографии «Hamilton, 1700», объем 10 $мм^3$, фирма «SUPELCO», кат. № 20972	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
pH-метр/милливольтметр pH-150 0…14 pH; ± 1 999 мВ, номер госрегистрации № 10663	
Хроматограф газовый HP6890 Series GC System с детектором по захвату электронов (ЭЗД), регистрационный номер в государственном реестре средств измерения № 201/978	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Аналитический стандарт Хлорпирифоса с содержанием действующего вещества не менее 99,8 %, чист., ГСО 7418	
Алюминий окись для хроматографии, ч	ТУ 6-09-3916—75
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный марки «А»	ТУ-51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцово-кислый, хч	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Флоризил® (Магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш., фирма «Acros Organics»	

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

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
Виалы (пузырьки) с тефлоновыми прокладками емкостью 40 $см^3$, кат. № Z 27,702-9, фирма «Aldrich»	
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней B-480, фирма «Buchi»	

Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая Rtx®-1 (100 % диметилполисилоксана), длина 15 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирма «Restek»	
Насос диафрагменный FT.19, фирма «KNF Neu Laboport»	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—2 000 $см^3$	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
Центрифуга MPW-350e с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$	

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 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 и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и

владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;

• выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с Флоризилом и колонок с окисью алюминия для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с Флоризилом и на колонках с окисью алюминия, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

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

Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

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

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией Хлорпирифоса 1,0 $мг/см^3$

Взвешивают 50 мг Хлорпирифоса в мерной колбе объемом 50 $см^3$. Навеску растворяют в гексане и доводят объем до метки гексаном. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике не более 6 месяцев.

7.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией Хлорпирифоса 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 гексаном. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике не более 4 месяцев.

7.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией Хлорпирифоса 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 н-гексаном. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике не более 4 месяцев.

7.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией Хлорпирифоса 0,1 $мкг/см^3$

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 $см^3$ и доводят объем до метки гексаном. Стандартный раствор № 4 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией Хлорпирифоса 0,05 мкг/см^3

Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки гексаном. Стандартный раствор № 5 используется установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией Хлорпирифоса 0,02 мкг/см^3

Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 2 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки гексаном. Стандартный раствор № 6 используется установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией Хлорпирифоса 0,01 мкг/см^3

Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки н-гексаном. Стандартный раствор № 7 используется установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Хлорпирифоса в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,1; 0,05; 0,02 и 0,01 мкг/см^3.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.7. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта и проверки хроматографического поведения Хлорпирифоса на ней

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 ацетона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения Хлорпирифоса на колонке с окисью алюминия

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора Хлорпирифоса в гексане с концентрацией 0,1 мкг/см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 10 см^3 ацетона, 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 пятью порциями ацетона 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 1 см^3 гексана и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

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

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

7.5. Подготовка колонки с Флоризилом для очистки экстракта и проверки хроматографического поведения Хлорпирифоса на ней

7.5.1. Подготовка колонки с Флоризилом для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г Флоризила с зернением 60/100 меш. и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой Флоризила наносят слой безводного серно-кислого натрия толщиной 1 см.

Непосредственно перед использованием колонку промывают 20 см^3 ацетона, тщательно отжимают и 10 см^3 гексана.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения Хлорпирифоса на колонке с Флоризилом

В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора Хлорпирифоса в гексане с концентрацией 0,1 мкг/см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на заранее подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при

температуре не выше 30 °С. Исходную колбу обмывают последовательно четырьмя порциями смеси гексана с ацетоном в соотношении 10 : 1 объемом 5 $см^3$ каждая и наносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Хлорпирифоса, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

Изучение поведения Хлорпирифос на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии Флоризила.

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 по ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р 50436—92 (ИСО 950:79) «Зерновые. Отбор проб зерна», ГОСТ 27262—87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб», ГОСТ 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки. ТУ», ГОСТ 656—79 «Соки плодовые и ягодные натуральные. ТУ», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 8988—2002 «Масло рапсовое. ТУ», ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. ТУ», ГОСТ 26832—86 «Картофель свежий для переработки на продукты питания. ТУ».

Пробы зерна и соломы пшеницы, семян рапса хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы масла рапса хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0—4 °С не более суток.

Пробы яблок и клубней картофеля хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С до 2-х лет.

Пробы яблочного сока хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 5 суток.

9. Подготовка проб и выполнение измерений

9.1. Зерно пшениц

9.1.1. Экстракция

Образец измельченного зерна пшеницы массой 10 г помещают в банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, прибавляют 10 $см^3$ дистиллированной воды, 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 45 мин на аппарат для встряхивания проб. Пробу центрифугируют в течение 5 мин при скорости 4 000 об./мин и экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$ через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 30 $см^3$ ацетонитрила и помещая каждый раз на 30 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракт объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С.

9.1.2. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия

Сухой остаток в концентраторе, полученный в п. 9.1.1, растворяют в 10 $см^3$ ацетона и наносят на заранее подготовленную колонку, элюат собирают. Исходную колбу обмывают еще четырьмя порциями ацетона по 10 $см^3$ каждая, и наносят последовательно на колонку. Элюаты объединяют в концентраторе объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С.

9.1.3. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Сухой остаток в концентраторе, полученный в п. 9.1.2, растворяют в 20 $см^3$ гексана и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Хлорпирифос экстрагируют тремя порциями ацетонитрила по 20 $см^3$, каждый раз встряхивая делительную воронку в течение 1—2 мин. После полного разделения слоёв нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 100 $см^3$, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Объединенный ацетонитрильный экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С.

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ вводят в хроматограф.

9.2. Солома пшеницы

9.2.1. Экстракция

Образец измельченной соломы пшеницы массой 5 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 10 $см^3$ воды и оставляют при комнатной температуре на 10 мин. Хлорпирифос экстрагируют 50 $см^3$ ацетонитрила, помещая на 45 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в коническую колбу объемом 250 $см^3$ с 5 г хлористого натрия через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ ацетонитрила и помещая каждый раз на 30 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракты объединяют в конической колбе с хлоридом натрия, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 10 мин. Затем содержимое колбы (без не растворившейся соли) переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ и выдерживают 5 мин. Выделившуюся нижнюю водную фазу отбрасывают, а верхний ацетонитрильный экстракт собирают в коническую колбу объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия. Из объединенного экстракта берут аликвоту

$^1/_5$ часть в концентратор объемом 100 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия» и п. 9.1.3 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей.

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ вводят в хроматограф.

9.3. Яблоки и клубни картофеля

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных яблок или клубней картофеля массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 30 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в коническую колбу объемом 250 $см^3$ с 5 г хлористого натрия через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 30 $см^3$ ацетонитрила и помещая каждый раз на 15 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракты объединяют в конической колбе с хлоридом натрия, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 10 мин. Затем содержимое колбы (без не растворившейся соли) переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ и выдерживают 5 мин. Выделившуюся нижнюю водную фазу отбрасывают, а верхний ацетонитрильный экс-

тракт собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия».

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.4. Яблочный сок

9.4.1. Экстракция

Из пробы томатного сока отбирают навеску массой 10 г в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, туда же добавляют 20 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия. Хлорпирифос экстрагируют 50 $см^3$ ацетонитрила, помещают на 15 мин на аппарат для встряхивания проб. Затем пробу переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ и после полного разделения слоев нижний водный слой возвращают в банку, а верхний ацетонитрильный экстракт собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 $см^3$. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 30 $см^3$ ацетонитрила и помещая смесь на 15 мин на аппарат для встряхивания проб.

Объединенный ацетонитрильный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия».

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.5. Семена рапса

9.5.1. Экстракция и очистка полученного экстракта

Образец измельченных семян рапса массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и помещают на 45 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 $см^3$ через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 30 $см^3$ ацетонитрила и помещая смесь на 30 мин на аппарат для встряхивания проб.

К объединенному ацетонитрильному экстракту в делительную воронку добавляют 20 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой собирают в коническую колбу объемом 250 $см^3$,

а гексан отбрасывают. Ацетонитрильную фракцию возвращают в делительную воронку и повторяют процедуру еще раз, используя 20 $см^3$ гексана. Ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия» и п. 9.1.3 «Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей».

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.6. Масло рапса

9.6.1. Экстракция и очистка полученного экстракта

Из пробы рапсового масла отбирают в стакан навеску массой 20 г и растворяют в 70 $см^3$ гексана. Полученную суспензию переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$, фильтруя ее через фильтр «красная лента» с безводным сульфатом натрия. Хлорпирифос экстрагируют тремя порциями ацетонитрила по 70 $см^3$, встряхивая смесь в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний (ацетонитрильный) слой собирают в коническую колбу объемом 250 $см^3$.

Объединенный ацетонитрильный экстракт переносят в чистую делительную воронку объемом 250 $см^3$, добавляют 30 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают в коническую колбу объемом 250 $см^3$, а гексан отбрасывают. Ацетонитрильную фракцию возвращают в делительную воронку и повторяют процедуру еще раз, используя 30 $см^3$ гексана. Ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ и упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.6.2. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия

К маслянистому остатку в концентраторе, полученному в п. 9.6.1, добавляют 10 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, и проводят очистку на колонках с окисью алюминия, как указано в п. 9.1.2.

9.6.3. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Сухой остаток в концентраторе, полученный в п. 9.6.2, растворяют в 20 $см^3$ гексана, переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ и

проводят очистку экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, как указано в п. 9.1.3.

9.6.4. Очистка экстракта на колонке с Флоризилом

Сухой остаток в концентраторе, полученный в п. 9.6.3, растворяют в 5 $см^3$ гексана, тщательно обмывая стенки концентратора, и наносят на заранее подготовленную колонку с Флоризилом, элюат отбрасывают. Хлорпирифос элюируют с колонки 15 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 10 : 1. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.7. Условия хроматографирования

Хроматограф газовый HP6890 Series GC System с детектором по захвату электронов (ЭЗД), в модификации с электронным управлением пневмонической системы (ЭУПС).

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая Rtx®-1, (100 % диметилполисилоксана), длина 15 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура детектора – 320 °С, поток обдува анода (азот) – 6,0 $см^3$/мин, поток поддува – 59,7 $см^3$/мин.

Температура испарителя – 240 °С, тип газа гелий, режим Split, давление 3,81 psi, деление потока 12 : 1, split поток 3,4 $см^3$/мин.

Программированный нагрев колонки с 180 °С (выдержка 1 мин) по 5 град./мин до 200 °С, с 200 °С по 2 град./мин до 220 °С (выдержка 1 мин), режим постоянный поток, поток колонки 0,3 $см^3$/мин, средняя скорость 13 см/с.

Абсолютное время удерживания Хлорпирифоса: 10,670 мин ± 3 %.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,01—0,1 нг.

Альтернативные условия хроматографирования (для картофеля).

Хроматограф газовый HP6890 Series GC System с детектором по захвату электронов (ЭЗД), в модификации с электронным управлением пневмонической системы (ЭУПС).

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая Rtx®-1 (100 % диметилполисилоксана), длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура детектора – 300 °С, поток обдува анода (азот) – 6,0 $см^3$/мин, поток поддува – 59,5 $см^3$/мин.

Температура испарителя – 240 °С, тип газа гелий, режим Split, давление 10,93 psi, деление потока 10 : 1, split поток 5,0 см^3/мин.

Программированный нагрев колонки с 180 °С (выдержка 1 мин) по 2 град./мин до 215 °С, режим постоянный поток, поток колонки 0,5 см^3/мин, средняя скорость 18 см/с.

Абсолютное время удерживания Хлорпирифоса: 13,610 мин ± 3 %.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,01—0,1 нг.

10. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа HP GC ChemStation Rev. A.06.03RUS.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Хлорпирифоса рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Хлорпирифоса в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мВ;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мВ;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемого образца, г;

P – содержание Хлорпирифоса 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:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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 0,05 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:

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

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

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

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

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

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., Калинина Т. С., ст. н. сотр., канд. с.-х. наук, Довгилевич А. В., ст. н. сотр., канд. хим. наук, Рыбакова О. И., науч. сотр., канд. с-х. наук.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (499) 976-37-68, факс: (499) 976-43-26.

gost.e-ecolog.ru