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 Тритиконазола в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии

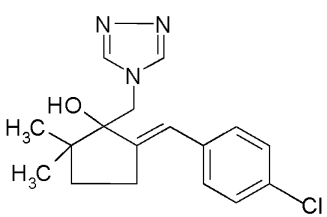
Методические указания
МУК 4.1.2917—11

Свидетельство о метрологической аттестации № 0088.05.05.11 от 11.05.2011.

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств Тритиконазола в семенах и масле сои в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Название по ИЮПАК: (±)-(E)-2,2-диметил-1-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-5-(4-хлор-бензилиден) циклопентан-1-ол.

Эмпирическая формула: $C_{17}H_{20}ClN_3O$.



Молекулярная масса: 317,82.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: белый, без запаха.

Давление паров: $0,1 \times 10^{-5}$ мПа при 50 °С.

Плотность (при 20 °С):1,326—1,369 г/см^3.

Коэффициент распределения октанол/вода: K_{ow}logP = 3,29 (при 20 °С).

Растворимость в воде: 9,3 мг/дм^3, не зависит от величины pH.

Растворимость в органических растворителях (г/100 см^3, при 25 °С): дихлорметан – 19,1, ацетон – 7,45, этилацетат – 4,86, толуол – 1,26, гексан – 0,012, метанол – 1,82, изопропанол – 0,76, 1-октанол – 0,62.

Тритиконазол термостабилен до 180 °С и устойчив к гидролизу. Не разлагается в водном растворе в темноте в течение 2 лет.

В почве Тритиконазол высокостоек T_{50} от 224 до 360 дней при 10 °С. В растениях соединение метаболизируется до гидроксипроизводных.

Краткая токсикологическая характеристика: Тритиконазол относится к веществам мало опасным по острой пероральной и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг), но опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 1 400 мг/м^3). Не раздражает кожные покровы и слизистую глаз кроликов.

Тритиконазол – фунгицид системного действия из группы ингибиторов синтеза стеролов, эффективно подавляет развитие головневых грибов, возбудителей плесневения семян при использовании в качестве протравителя семян и при обработке растений – мучнистой росы, пятнистости листьев зерновых культур и кукурузы.

Применяется для подавления пыльной, твердой головни, гельминтоспориозных и фузариозных корневых гнилей, септориоза и плесневания семян с нормой расхода 30—50 г д.в. на т семян в зависимости от культуры путем протравливание семян с увлажнением перед посевом или заблаговременно до посева (до 1 года).

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,005 мг/кг массы тела человека; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,8 мг/м^3; ПДК в воде водоемов – 0,001 мг/дм^3; ПДК в воде рыбохозяйственных водоемов – 0,001 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,1 мг/кг; МДУ в зерне хлебных злаков – 0,04 мг/кг, в зерне кукурузы и проса – 0,1 мг/кг.

МДУ Тритиконазола (в импортируемой продукции): в семенах и масле сои – 0,02 мг/кг.

1. Метрологическая характеристика метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности

$P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для Тритиконазола

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, %
Семена сои	0,01—0,1	50	4,02	11,18	15,65
Масло сои	0,01—0,1	50	3,87	10,76	15,08

Таблица 2

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

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, ±, %
Семена сои	0,01	0,01—0,1	85,55	3,00	1,41
Масло сои	0,01	0,01—0,1	83,35	2,83	1,11

2. Метод измерения

Метод основан на определении Тритиконазола методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием детектора по захвату электронов после экстракции его из семян сои этилацетатом, масла сои ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами, на колонках с Флоризилом и на концентрирующих патронах Диапак С16.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором капиллярной колонки и условий программирования температуры.

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
Хроматограф газовый «Кристалл 2000м» с детектором по захвату электронов (ЭЗД) с пределом детектирования по Линдану 4×10^{-14} г/$см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки. Номер в государственном реестре средств измерений 14516-95	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Тритиконазол, CAS 131983-72-7, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 96,1 %, фирма Dr. Ehreustorfer GmbH, аккредитованная по ИСО 9001:2000	
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода бидистиллированная (бидистиллят), деионизированная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный марки «А»	ТУ-51-940—80

n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцово-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Концентрирующие патроны Диапак С16 (0,6 г), фирма «БиоХимМак СТ»	ТУ 4215-002-05451931—94
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Этилацетат, чда	ГОСТ 22300—76
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

Алонж прямой с отводом для вакуума (АО-14/23) для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1»	
Виалы (пузырьки) с тефлоновыми прокладками емкостью 40 $см^3$, кат. № Z 27,702-9, фирма «Aldrich»	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней B-480, фирма «Buchi»	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250, 500 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 HP-1 (100 % метилсилоксан), длина 5 м, внутренний диаметр 0,53 мм, толщина пленки 2,65 мкм, фирма «Hewlett Packerd»	
Насос диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport	

Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—500 см^3	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см^3 и приемной конической колбой объемом 1 000 см^3	
Фильтры бумажные, «красная лента»	ТУ-6-09-1678—86
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 газожидкостном 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 концентрирующих патронов Диапак С 16 и колонок с Флоризилом для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах Диапак С 16 и на колонках с Флоризилом, 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 часов. 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

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней 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 Тритиконазола 1,0 мг/см^3

Взвешивают 50 мг Тритиконазола в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления

стандартных растворов для хроматографического исследования и построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 12 месяцев.

7.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией Тритиконазола 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 ацетоном. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов и построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией Тритиконазола 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 ацетоном. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов и для построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией Тритиконазола 0,5 мкг/см^3

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 4 используется для приготовления стандартных растворов и для построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией Тритиконазола 0,25 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 ацетоном. Стандартный раствор № 5 используется для построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией Тритиконазола 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 ацетоном. Стандартный раствор № 6 используется для построения калибровочной

кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией Тритиконазола 0,05 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 ацетоном. Стандартный раствор № 7 используется для построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Тритиконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,5; 0,25; 0,1 и 0,05 мкг/см^3.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонок с Флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения Тритиконазола на них

7.4.1. 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 нанесением пробы колонку промывают 30 см^3 ацетона, тщательно отжимают.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения Тритиконазола на колонке с Флоризилом

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

Исходную колбу обмывают сначала 20 см^3 гексана, затем 25 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 5 : 1, а затем еще пятью порци-

ями смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 объемом 5 $см^3$ 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 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

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

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

7.5. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С16 для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения Тритиконазола на них

7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С16 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин (1—2 кап./с).

Патрон Диапак С16 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 $см^3$ ацетона, затем 10 $см^3$ воды. Элюаты отбрасывают.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения Тритиконазола на концентрирующих патронах Диапак С16

В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора Тритиконазола в ацетоне с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 9 $см^3$ воды, перемешивают и наносят на подготовленный патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу обмывают сначала 10 $см^3$ смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 3, затем четырьмя порциями смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 1 объемом 5 $см^3$ каждая и последовательно вносят их на патрон. 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 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Тритиконазол, полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения Тритиконазола на концентрирующих патронах Диапак С16 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТ Р 52062—03 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы семян сои подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы масла сои хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0—4 °С не более 2 недель.

9. Подготовка проб и выполнение измерений

9.1. Семена сои

9.1.1. Экстракция

Образец измельченных семян сои массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ этилацетата и помещают на 45 мин на аппарат для встряхивания проб. Пробу центрифугируют в течение 10 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 $см^3$ этилацетата и помещая каждый раз на 30 мин на аппарат для встряхивания проб. Пробы центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4 000 об./мин, супернатант фильтруют. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К сухому остатку в концентраторе, полученному в п. 9.1.1, прибавляют 1 $см^3$ ацетона, обмывают стенки концентратора и добавляют 20 $см^3$ гексана, переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Тритиконазол экстрагируют тремя порциями ацетонитрила по 20 $см^3$, каждый раз встряхивая делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а ацетонитрил объединяют в плоскодонной колбе объемом 250 $см^3$.

Объединённые ацетонитрильные экстракты возвращают в делительную воронку, добавляют 20 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают в плоскодонную колбу объемом 250 $см^3$, а верхний (гексан) отбрасывают. Ацетонитрильную фракцию возвращают в делительную воронку и повторяют процедуру еще один раз, используя 20 $см^3$ гексана. Ацетонитрильный экстракт собирают в концентратор объемом 250 $см^3$, пропуская через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с Флоризилом

Сухой остаток в концентраторе, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 5 $см^3$ гексана, перемешивают и наносят на заранее подготовленную колонку с Флоризилом, элюат отбрасывают.

Исходную колбу последовательно обмывают 20 $см^3$ гексана, 25 $см^3$ смеси ацетона с гексаном в соотношении 1 : 5 и 5 $см^3$ смеси ацетона с гексаном в соотношении 1 : 1, вносят полученные растворы на колонку, а элюаты отбрасывают.

Тритиконазол элюируют с колонки 20 $см^3$ смеси ацетона с гексаном в соотношении 1 : 1, элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в испаритель хроматографа.

9.2. Масло сои

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта

Из пробы соевого масла отбирают в стакан навеску массой 10 г, добавляют 50 $см^3$ гексана, тщательно обмывая стенки стакана, и переносят

в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Добавляют в делительную воронку 50 $см^3$ ацетонитрила и встряхивают смесь в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний (ацетонитрильный) слой собирают в плоскодонную колбу объемом 250 $см^3$. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 $см^3$ ацетонитрила, встряхивая делительную воронку каждый раз в течение 2 мин. Объединённый ацетонитрильный экстракт переносят в новую делительную воронку, добавляют 20 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают в плоскодонную колбу объемом 250 $см^3$, а верхний (гексан) отбрасывают. Ацетонитрильную фракцию возвращают в делительную воронку, повторяют процедуру еще раз, используя 30 $см^3$ гексана. Ацетонитрильный экстракт собирают в концентратор и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.2.2. Очистка экстракта на колонке с Флоризилом

Сухой остаток, полученный по п. 9.2.1, растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 5 $см^3$ гексана, перемешивают и проводят очистку на колонках с Флоризилом, как указано в п. 9.1.3 «Очистка экстракта на колонках с Флоризилом».

9.2.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С16

Сухой остаток, полученный по п. 9.2.2, растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 $см^3$ воды, тщательно перемешивают и наносят на заранее подготовленный патрон Диапак С16, элюат отбрасывают. Промывают патрон 10 $см^3$ смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 3, элюат отбрасывают. Тритиконазол элюируют 15 $см^3$ смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 1, собирая элюент в концентратор объемом 100 $см^3$, и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Условия хроматографирования

Хроматограф газовый «Кристалл 2000м» с детектором по захвату электронов (ЭЗД) с пределом детектирования по Линдану 4×10^{-14} г/$см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки. Номер в государственном реестре средств измерений 14516-95.

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая НР-1, (100 % метилсилоксан), длина 5 м, внутренний диаметр 0,53 мм, толщина пленки 2,65 мкм, фирма «НР».

Температура детектора – 320 °С, испарителя – 260 °С, программированный нагрев колонки с 220 °С (выдержка 2 мин) по 10 град./мин до 260 °С (выдержка 6 мин).

Газ 1: тип регулятора расхода газа РРГ 11, режим нормальный, скорость 50 см/с, давление 9,1 кПа.

Газ 2 (гелий) – 10 $см^3$/мин: расход 0,5 $см^3$/мин, сброс 1 : 20.

Газ 3 (азот, поддув детектора) – 45 $см^3$/мин.

Абсолютное время удерживания Тритиконазола: 6,33 мин ± 2 %.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,05—0,5 нг.

10. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа «Хроматэк Аналитик», версия 1.20.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Тритиконазола рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Тритиконазола 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 Тритиконазола 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 0,01 мг/кг*»*

* – *0,01 мг/кг – предел обнаружения.*

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для Тритиконазола проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 12 месяцев, при смене основных градуировочных растворов № 2 и 3 – каждые 6 месяцев, при смене основных градуировочных растворов № 4, 5, 6 и 7 – каждые 3 месяца, а также в начале и окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание Тритиконазола в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,05 до 0,5 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$$\dot{A} = \frac{(\tilde{O} - \tilde{N}) \cdot 100}{\tilde{N}} \le 7,54, \text{ где}$$

X – концентрация Тритиконазола контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора Тритиконазола в гексане, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

7,54 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (А) превышает 4,5 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов Тритиконазола, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д = \Delta_{\dot{e},\tilde{O}} + \Delta_{\dot{e},\tilde{O}'}, \text{ где}$$

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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

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

14. Разработчики

Калинин В. А., профессор, канд. с-х. наук, 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