Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2905—11; 4.1.2908; 4.1.2910—11; 4.1.2911—11; 4.1.2915—11

Издание официальное

Москва • 2011

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 пестицидов в сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2905—11; 4.1.2908—11; 4.1.2910—11; 4.1.2911—11; 4.1.2915—11

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.—88 с.

ISBN 978—5—7508—1049—9

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России.

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

3. 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.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

Редактор Н. Е. Акопова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 16.11.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 5,5

Тираж 200 экз. Заказ 145

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

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

Содержание

Определение остаточных количеств Изоксафлютола в виде RPA 202248 в масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2905—11 4

Определение остаточных количеств Этаметсульфурон-метила в семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2908—11 21

Определение остаточных количеств Фосэтил алюминия в плодах огурца, томата и томатном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2910—11 40

Определение остаточных количеств Римсульфурона в плодах томата и томатном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2911—11 55

Определение остаточных количеств Лямбда-Цигалотрина в семенах и масле подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2915—11 74

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 Изоксафлютола в виде RPA 202248 в масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.2905—11

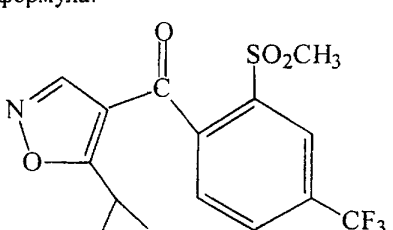
Свидетельство о метрологической аттестации № 0085.25.04.11 от 25.04.2011.

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств Изоксафлютола в виде RPA 202248 в масле кукурузы в диапазоне 0,025—0,25 мг/кг.

Название действующего вещества по ИЮПАК:

Изоксафлютол: 5-циклопропил-1,2-оксазол-4-ил α,α,α-трифтор-2-мезил-ρ-толил кетон.

Структурная формула:



Молекулярная масса: 359.

Эмпирическая формула: $C_{15}H_{12}F_3NO_4S$.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: белый, без запаха.

Давление паров: 1×10^{-3} мПа (при 25 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: logP K_{ow} = 2,32.

Температура плавления: 140 °С.

Растворимость в воде (мг/дм^3, при 20 °С и pH 5,5): 6,2.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 20 °С): ацетон – 293; гексан – 0,1; дихлорметан – 346; метанол – 13,8; толуол – 31,2; этилацетат – 142.

Быстро разрушается в щелочной среде.

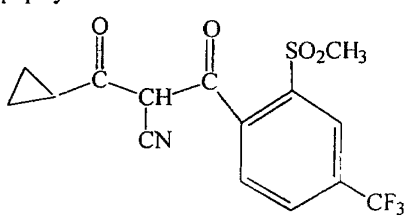
Подвергается гидролизу, T_{50} составляет при pH 5—11,1 суток, при pH 7—20,1 дней, при pH 9—3,2 дня.

Основной метаболит Изоксафлютола – RPA 202248.

Название по ИЮПАК:

RPA 202248: 2-циано-3-циклопропил-1-(2-метилсульфонил-4-трифторметилфенил)-пропан-1,3-дион.

Структурная формула:



Молекулярная масса: 359.

Эмпирическая формула: $C_{15}H_{12}F_3NO_4S$.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: белый, без запаха.

Температура плавления – 137,3 °С.

Растворимость в воде мг/дм^3 (25 °С): 326.

pKa 1,64.

Краткая токсикологическая характеристика: Изоксафлютол относится к мало опасным веществам по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг) и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для кроликов более 2 000 мг/кг), но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 5 230 мг/м^3). Кумулятивные свойства Изоксафлютола выражены слабо; не раздражает кожу и слабо раздражает слизистую оболочку глаз. Аллергенное действие Изоксафлютола не выявлено.

Изоксафлютол – гербицид системного действия, проникающий через корни и листья растений и ингибирующий биосинтез каротиноидов. Хорошо подавляет развитие широколистных и злаковых сорняков в посевах кукурузы при довсходовой обработке или допосевном внесении с нормой расхода 75—140 г д.в./га.

В России применяется против однолетних злаковых и двудольных сорных растений в посевах кукурузы с нормой расхода по препарату 0,1—0,16 кг/га.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,002 мг/кг массы человека; ПДК в воде водоемов – 0,02 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,1 мг/кг; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м^3; в атмосферном воздухе – 0,001 мг/м^3; МДУ в продукции (мг/кг): зерно кукурузы – 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 RPA 202248

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, %
Масло кукурузы	0,025—0,05 вкл.	50	3,16	8,78	12,29
	0,1—0,25 вкл.	25	3,79	10,52	14,70

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для RPA 202248

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, ±, %
Масло кукурузы	0,025	0,025—0,25	85,33	2,09	1,20

2. Метод измерений

Метод основан на определении RPA 202248 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, перевода Изоксафлютола в его метаболит RPA 202248 в щелочной среде, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на концентрирующих патронах Диапак Диол.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические «OHAUS», EP 114 с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г, класс точности по ГОСТ 24104-1 – специальный (I)

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г «ACCULAB» V600, соответствуют классу точности по ГОСТ 24104-1 – средний (III)

Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$ ГОСТ 1770—74

Микрошприц для жидкостной хроматографии «Hamilton, 1700», объем 100 мм^3, фирма «SUPELCO», кат. № 26281	
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 жидкостной Waters 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу, номер госрегистрации № 15311-02	
Цилиндры мерные на 10, 25, 50 и 100 см^3	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

RPA 202248, CAS 143701-75-1, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,3 %, фирма Dr. Ehreustorfer GmbH, аккредитованная по ИСО 9001:2000	
Изоксафлютол, CAS 141112-29-0, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,6 %, фирма Dr. Ehreustorfer GmbH, аккредитованная по ИСО 9001:2000	
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, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота соляная, хч	ГОСТ 3118—77
Кислота трифторуксусная, 99 %, CAS 76-05-1, фирма «Acros Organics»	
Концентрирующие патроны Диапак Диол (0,6 г), фирма «БиоХимМак СТ»	ТУ 4215-002-05451931—94
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77

Натрия гидроокись, хч	ГОСТ 4328—77
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Спирт метиловый (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Хлороформ, хч	ГОСТ 20015—88
Этилацетат, чда	ГОСТ 22300—76

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума (АО-14/23) для работы с концентрирующими патронами Диапак Диол	ГОСТ 25336—82
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 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма «Waters»	
Насос диафрагменный FT.19, фирма «KNF Neu Laboport»	
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 8, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters»	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 50—500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$	
Фильтры бумажные, «красная лента»	ТУ-6-09-1678—86

Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма «Waters»	
Шприц инъекционный однократного применения объемом 10 $см^3$	ГОСТ 24861—91 (ИСО 7886-84)

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

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

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений 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 выполнению определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов Диапак Диол для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах Диапак Диол, установление градуировочной зависимости.

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, 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 ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцово-кислый калий из расчета 100 мг/дм^3. Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Очистка бидистиллированной воды

Дистиллят помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, добавляют туда марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 ч и затем перегоняют. Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре выше и ниже 100,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. Приготовление 0,2 % (по объему) раствора трифторуксусной кислоты.

В мерную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 500 см^3 очищенной воды и 2 см^3 99 % трифторуксусной кислоты, перемешивают, доводят объем в колбе до метки очищенной водой, еще раз тщательно перемешивают. Раствор хранится в течение недели при комнатной температуре.

7.2.1.2. Приготовление раствора для разведения проб.

Мерным цилиндром объемом 100 см^3 отмеряют 80 см^3 ацетонитрила и помещают в коническую колбу на 100 см^3. Туда же помещают 20 см^3 0,2 % раствора трифторуксусной кислоты. Смесь тщательно перемешивают и используют для растворения проб перед хроматографированием.

7.2.1.3. Приготовление 1 М раствора гидроокиси натрия.

В мерную колбу на 500 см^3 переносят 20 г гидроокиси натрия, добавляют 200—300 см^3 дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил и очищенную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила и 500 см^3 0,2 %-го раствора трифторуксусной кислоты. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см^3/мин в течение 5 мин, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 мин.

7.2.3. Приготовление градуировочных растворов

7.2.3.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией RPA 202248 1,0 мг/см^3.

Взвешивают 50 мг RPA 202248 в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.3.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией RPA 202248 10,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.3.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией RPA 202248 1,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 3 используется для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.3.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией RPA 202248 0,5 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 4 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.3.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией RPA 202248 0,2 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 5 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.3.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией RPA 202248 0,1 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 6 хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.3.7.Стандартные растворы RPA 202248 с концентрацией 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы.

Методом последовательног разведения ацетоном готовят растворы, содержащие по 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации RPA 202248 в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Диол для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения RPA 202248 на них

7.4.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Диол 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 Диол устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 см^3 метанола и 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения RPA 202248 на концентрирующих патронах Диапак Диол

Из стандартного раствора RPA 202248 в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/см^3, отбирают 1 см^3, помещают в концентратор объемом 100 см^3 и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 1 см^3 гексана, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси ацетонитрила с 0,2 % раствором трифторуксусной кислоты в соотношении 8 : 2 и хроматографируют.

Исходный концентратор обмывают 2 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и 10 см^3 гексана и последовательно вносят на патрон. Элюаты собирают в концентратор объемом 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С и хроматографируют.

Исходный концентратор последовательно обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и 10 см^3 метанола и последовательно вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой фракции

собирают в концентратор объемом 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,2 %-м раствором трифторуксусной кислоты в соотношении 8 : 2 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие RPA 202248, полноту смывания с патронов и необходимый объём элюента.

Изучение поведения RPA 202248 на концентрирующих патронах Диапак Диол проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов.

7.5. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 с предколонкой Symmetry C8 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1 $см^3$/мин в течение 3—4 ч.

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 8808—2000 «Масло кукурузное. ТУ», ГОСТ Р 52062—2003 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб».

9. Подготовка проб и выполнение измерений

9.1. Масло кукурузы

Из пробы кукурузного масла отбирают в стакан навеску массой 10 г и переносят ее в делительную воронку объемом 250 $см^3$ тремя порциями гексана объемом по 20 $см^3$. Экстрагируют RPA 202248 тремя порциями ацетонитрила объемом по 30, 20 и 30 $см^3$, встряхивая делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Верхний слой (гексан) отбрасывают.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К масляному остатку в концентраторе, полученному в п. 9.1.1, прибавляют 3 $см^3$ ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, 30 $см^3$ воды, 5 г хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Водную фракцию промывают тремя порциями гексана объемом по 20 $см^3$ каждая, встряхивая делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а водную фракцию собирают в коническую колбу объемом 250 $см^3$. Затем содержимое колбы подщелачивают 1 М раствором гидроокиси натрия до pH 9, перемешивают. Водную фракцию возвращают в делительную воронку и промывают одной порцией хлороформа объемом 30 $см^3$, встряхивая делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке хлороформ отбрасывают.

Экстрагируют RPA 202248 тремя порциями этилацетата объемом по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (этилацетат) объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее экстракт подвергают очистке на концентрирующих патронах Диапак Диол.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак Диол

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 1 $см^3$ гексана, перемешивают и вносят на заранее подготовленный патрон. Исходный концентратор обмывают 2 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и 10 $см^3$ гексана и 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и последовательно вносят полученные растворы на патрон. Элюаты отбрасывают. Элюируют RPA 202248 10 $см^3$ метанола, собирают в концентратор объемом 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,2 % раствора трифторуксусной кислотой в соотношении 8 : 2 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматограф жидкостный Waters 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу, номер госрегистрации № 15311-02 или другой с аналогичными характеристиками.

Колонка стальная Symmetry Shield RP18, 250 мм × 4,6 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters».

Предколонка стальная Symmetry C8, 20 мм × 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters».

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,2 %-й раствор трифторуксусной кислоты в соотношении 80 : 20.

Длина волны: 300 нм.

Время удерживания RPA 202248: 11,414 мин ± 2 %.

Чувствительность не менее 0,005 AUFS (единиц абсорбции на шкалу).

Объем вводимой пробы: 20 мм^3.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

10. Обработка результатов

Поскольку молекулярные массы Изоксафлютола и RPA 202248 одинаковы, никаких дополнительных пересчетов не требуется.

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа Empower2.

Содержание Изоксафлютола рассчитывают по формуле:

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

X – содержание RPA 202248 в пробе, мг/кг;

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

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

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

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

m – масса анализируемого образца, г (см^3);

P – содержание RPA 202248 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 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:

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

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результа тов 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:

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

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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), 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 концентраций, табл. 1), %.

14. Разработчики

Калинин В. А., профессор, канд. с-х. наук, Довгилевич Е. В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Довгилевич А. В., ст. н. сотр., канд. хим. наук, Устименко Н. В., ст. н. сотр., канд. биол. наук.

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