Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в воде, почве, сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2916—11; 4.1.2931—11; 4.1.2933—11; 4.1.2935—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 воде, почве, сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2916—11; 4.1.2931—11; 4.1.2933—11; 4.1.2935—11

ББК 51.21+51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в воде, почве, сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—72 с.

ISBN 978—5—7508—1080—2

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

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

Подписано в печать 15.12.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,5

Тираж 200 экз. Заказ 161

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 эпидемнологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

Определение остаточных количеств трициклазола в воде, почве, *зеленой массе, зерне и соломе риса* методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2916—11 4

Определение остаточных количеств диметоморфа в воде, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2931—11 21

Определение остаточных количеств биспирибака кислоты в воде, почве, зерне и соломе риса хроматографическими методами: МУК 4.1.2933—11 36

Определение остаточных количеств этаметсульфурон-метила в воде и почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2935—11 57

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 биспирибака кислоты в воде, почве, зерне и соломе риса хроматографическими методами

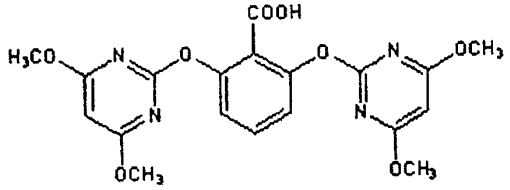
Методические указания МУК 4.1.2933—11

Свидетельство о метрологической аттестации № 0079.23.03.11 от 24.03.2011.

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовых концентраций биспирибака кислоты в воде в диапазоне 0,0005—0,005 мг/дм^3, методы высокоэффективной жидкостной и газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций биспирибака кислоты почве, зерне риса в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг, соломе риса в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Биспирибак кислота

2,6-Бис[(4,6-диметоксипиримидин-2-ил)окси]бензойная кислота (IUPAC).



$C_{19}H_{18}N_4O_8$.

Мол. масса 430,4.

Белое порошкообразное вещество без запаха. Температура плавления 148—150 °С. Давление паров при 25 °С: 6,47 × 10^{-6} мПа. Растворимость в органических растворителях при 20 °С (г/$дм^3$): метанол – 23; тетрагидрофуран – 61; этанол – 9,5. Растворимость в воде при 20 °С – 0,4 г/$дм^3$.

Биспирибак стабилен в водной среде при pH 5—7, при pH 9 переходит в соответствующие соли.

Область применения: биспирибак кислота рекомендуется в качестве послевсходового гербицида на посевах риса для борьбы с широким спектром однолетних и многолетних сорняков.

1. Метрологические характеристики

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/$дм^3$ (мг/кг)	Показатель точности (граница относительной погрешности), % $P = 0,95$		Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
		по методу внесено-найдено	граница расширенной неопределенности*, U			
Вода	от 0,0005 до 0,005 вкл.	11,3	50	2,0	6	8
Почва	от 0,01 до 0,1 вкл.	17,4	50	3,8	11	15
Зерно риса	от 0,01 до 0,1 вкл.	19,0	50	2,9	8	11
Солома риса	от 0,05 до ,5 вкл.	18,2	50	3,3	9	13

* U – граница расширенной неопределенности при коэффициенте охвата 2, в соответствии с ГОСТ 27384—2002 «Вода. Нормы погрешности измерений показателей состава и свойств» и документом SANCO/10684/2009

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/дм^3 (мг/кг)	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3 (мг/кг)	Полнота извлечения вещества, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,0005	0,0005—0,005	96,69	2,18	1,2
Почва	0,01	0,01—0,1	87,24	3,12	1,7
Зерно риса	0,01	0,01—0,1	85,46	2,35	1,3
Солома риса	0,05	0,05—0,5	86,36	2,75	1,5

2. Метод измерений

Метод основан на определении биспирибака кислоты в воде использованием обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором; почве, зерне и соломе риса с использованием ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектором и капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором после извлечения вещества из анализируемых образцов почвы и растительного материала смесью ацетонитрил-вода, очистки экстрактов перераспределением между двумя несмешивающимися фазами, затем на концентрирующем патроне С18 Sep Pak. Газохроматографическому измерению предшествует стадия дериватизации вещества в метиловый эфир.

Для концентрирования и очистки проб воды использованы патроны для твердофазной экстракции С18 Sep Pak.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны фирмы «Agilent» — Номер Госреестра 16193-06

Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле 5×10^{-19} г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой — Номер Госреестра 14516-08

Весы аналитические ВЛА-200 — ГОСТ 24104—2001

Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ 24104-2001
Микрошприц SGE-Cromatec, вместимостью 10 мм^3	Номер в Госреестре СИ 39206-08
pH-метр (pH-211) фирмы «Hanna Instrument»	Номер Госреестра 20378-00
Колбы мерные вместимостью 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ 7328—2001
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 см^3	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 250, 500 и 1 000 см^3	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Биспирибак кислота, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 98,2 % (CAS № 125401-75-4), относительная погрешность аттестованного значения ± 1,8 % (НПК «Блок-1»)	
Азот газообразный нулевой, марка А (99,999 %), в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—2005
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-06-657—84
Калия гидроокись (гидроксид калия), гранулированный, хч	ГОСТ 24363—80
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид кальция), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота серная (концентрированная), хч	ГОСТ 4204—77
Кислота ортофосфорная, хч, 85 %	ГОСТ 6552—80
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61—75
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Метиламин гидрохлорид, ч	ТУ 6-09-3755—74
Мочевина, чда	ГОСТ 6691—77

Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Натрий азотисто-кислый (нитрит натрия), хч	ГОСТ 4197—74
Натрий углекислый кислый (гидрокарбонат), хч	ГОСТ 4201—79
Натрий уксусно-кислый, (ацетат натрия), 3-водный	ГОСТ 199—78
Натрия гидроокись (гидроксид натрия), хч	ГОСТ 4328—77
Натрий серно-кислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий фосфорно-кислый двузамещенный, 12-водный, хч	ГОСТ 4172—76
Натрий фосфорно-кислый однозамещенный, 2-водный, хч	ГОСТ 245—76
Натрий хлористый, хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
Пропанол-1 (н-пропанол), хч	ТУ 6-09-4344—77
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76
Эфир диэтиловый (этиловый эфир), чда	ТУ 2600-001-43852015—02

Допускается использование реактивов иных производителей с более высокой квалификацией, не требующих выполнения п. 7.1 (очистка растворителей).

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аллонж прямой с отводом для вакуума (для работы с концентрирующими патронами)	
Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Баня водяная	ТУ 46-22-603—75
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Бумага индикаторная универсальная pH 1-10	ТУ 6-09-1181—89
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронка делительная вместимостью 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные типа В-36-80 ХС и В-56-80 ХС	ГОСТ 25336—82
Генератор водорода, исполнение 6.140 (СКБ «Хроматэк», Россия)	

Груша резиновая	ТУ9398-05-0576-9082—2003
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы конические (плоскодонные) с пришлифованной пробкой вместимостью 100, 250—300 и 400—500 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 50, 150, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Компрессор (СКБ «Хроматэк», Россия)	
Лед	
Мешалка магнитная	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	
Патроны для твердофазной экстракции (картриджи) C18 Sep-Pak Classic (360 mg), WAT051940 (Waters, США)	ГОСТ 25336—82
Пробирка со шлифом вместимостью 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Сито с диаметром отверстий 1 мм	
Стаканы химические, вместимостью 200—250, 600, 800 и 2 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Склянка из темного стекла	
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель B-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник водяной обратный	
Хроматографическая колонка капиллярная VF-5ms, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Eclipse XDB C18, зернение 5 мкм	
Центрифуга роторная, скорость вращения до 3500 об./мин, с центрифужными стаканами объемом 100 $см^3$	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—100 $мм^3$	

Шприц медицинский инъекционный однократного применения вместимостью 10 $см^3$	ГОСТ 24861—91 (ИСО 7886-84)

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—79, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный и газовый хроматографы.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе на должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 $кгс/см^2$), необходимо соблюдать «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576-03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном и газовом хроматографах, освоивших данную методику и подтвердивших экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п.13.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;
- выполнение измерений на жидкостном и газовом хроматографах проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, градуировочных растворов, раствора внесения, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, концентрирующих патронов, проверка хроматографического поведения биспирибака кислоты на патроне С18 Sep Pak Classic.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 $дм^3$ ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 $дм^3$ ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.1.2. Этилацетат, дихлорметан

7.1.2.1. Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %. Навеску (25 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

7.1.2.2. Очистка растворителя. Растворитель промывают последовательно 5 %-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.2. Приготовление раствора гидрокарбоната натрия с массовой долей 5 % (5 %-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают (50 ± 0,1) г гидрокарбоната натрия и растворяют в 500—600 $см^3$ дистиллированной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Приготовление раствора гидроксида калия с массовой долей 40 % (40 %-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ помещают (20 ± 0,1) г гидроксида калия, растворяют в 25—30 $см^3$ дистиллированной воды, доводят водой до метки.

7.4. Получение N-нитрозо-N-метилмочевины

В отсутствии коммерческого препарата нитрозометилмочевины осуществляют его синтез.

Все работы необходимо проводить в вытяжном шкафу!

В круглодонную колбу на шлифе вместимостью 1 $дм^3$, снабженную обратным холодильником, помещают 80 г метиламина гидрохлорида и 300 г мочевины, растворяют содержимое в 400 $см^3$ воды и кипятят 3 ч с обратным холодильником на водяной бане. Раствор в колбе охлаждают до комнатной температуры и добавляют в него 110 г нитрита натрия, охлаждают в бане со льдом, содержащим хлорид натрия, до 0 °С и медленно при перемешивании вливают в смесь 600 г льда и 60 $см^3$ концентрированной серной кислоты, помещенную в стакан вместимостью 2 $дм^3$, охлаждаемый снаружи смесью льда с хлоридом натрия. Выпавшие кристаллы нитрозометилмочевины немедленно отфильтровывают на воронке Бюхнера, хорошо отсасывают под вакуумом и промывают на фильтре ледяной водой.

Внимание! Нитрозометилмочевину хранят в темной склянке в холодильнике, так как под действием света и тепла она может взорваться.

7.5. Получение раствора диазометана

Диазометан взрывоопасен и очень ядовит. Все работы необходимо проводить в вытяжном шкафу!

В коническую колбу на 100 $см^3$ вносят 20 $см^3$ 40 %-го раствора гидроксид калия и 50 $см^3$ диэтилового эфира, колбу помещают в баню со льдом и охлаждают до температуры 2—5 °С. В охлажденную смесь порциями при перемешивании на магнитной мешалке или путем встряхивания вносят 5 г нитрозометилмочевины. Реакционную смесь выдерживают на холоду 10 мин. Затем эфирный слой сливают в чистую коническую колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют 10—15 гранул гидроксида калия и колбу оставляют в бане со льдом на 2,5—3,0 ч для осушения раствора.

Раствор диазометана в эфире годен к употреблению при хранении в холодильнике в течение 1—2 суток. При хранении сосуды с диазометаном нельзя плотно закрывать!

7.6. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

7.6.1. Приготовление раствора ортофосфорной кислоты с массовой долей 0,2 % (0,2 %-й раствор). В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 250—300 $м^3$ бидистиллированной воды, вносят 2 $см^3$ ортофосфорной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

7.6.2. Приготовление подвижной фазы. В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 350 см^3 ацетонитрила, вносят 650 см^3 0,2 %-го раствора ортофосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.7. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.6) при скорости подачи растворителя 0,8 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.8. Приготовление градуировочных растворов

7.8.1. Исходный раствор биспирибака кислоты для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,0100 г биспирибака кислоты, растворяют в 50—60 см^3 ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре –18 °С в течение 3 месяцев.

7.8.2. Серия № 1 (метод ВЭЖХ)

Растворы № 1—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

7.8.2.1. Раствор № 1 биспирибака кислоты для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора биспирибака кислоты с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.8.1), разбавляют ацетонитрилом до метки.

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

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено».

7.8.2.2. Рабочие растворы № 2—5 биспирибака кислоты для градуировки (концентрация 0,1—1,0 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.8.2.1), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.6, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2—5 с концентрацией биспирибака кислоты 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см^3, соответственно.

Рабочие растворы хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 2 недель.

7.8.3. Серия № 2 (метод ГЖХ)

7.8.3.1. Исходный раствор метилового эфира биспирибака кислоты для градуировки (соответствует концентрации биспирибака кислоты 50 мкг/см^3). В круглодонную колбу вместимостью 50 см^3 помещают 5 см^3 исходного раствора биспирибака с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.8.1), растворитель отдувают потоком теплого воздуха, вносят 5 см^3 раствора диазометана, выдерживают 30 мин при комнатной температуре. Вносят в колбу 0,1 см^3 н-пропанола, отдувают растворитель потоком теплого воздуха (не помещая колбу на подогретую водяную баню) до влажного остатка. Вносят в колбу 1 см^3 гексана и вновь отдувают растворитель до влажного остатка (отсутствие запаха эфира).

Остаток растворяют в 10 см^3 этилацетата, перемешивают. Раствор метилового эфира биспирибака кислоты с концентрацией 50 мкг/см^3 хранится в холодильнике не более 10 дней.

Растворы № 2—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора.

7.8.3.2. Рабочие растворы № 2—5 метилового эфира биспирибака кислоты для градуировки (концентрация биспирибака кислоты 0,25—2,5 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5; 1,0; 2,5 и 5,0 см^3 исходного раствора метилового эфира биспирибака кислоты (приготовленного по п. 7.8.3.1), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией биспирибака кислоты 0,25; 0,5; 1,25 и 2,5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике в течение 10 дней.

7.9. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мЕА · с или мВ · с) от концентрации биспирибака кислоты в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки № 2—5.

В инжектор жидкостного хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора, приготовленного по п. 7.8.2.2, и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.1, в испаритель газового хроматографа – по 2 мм^3 каждого градуировочного раствора, приготовленного по п. 7.8.3.2, и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.2. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков действующего вещества (или его метилового эфира), на основании которых строят градуировочную зависимость.

Градуировочный график проверяют перед проведением измерения по анализу одного из градуировочных растворов. Если значение площади отличается более чем на 11 % от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.10. Приготовление раствора ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3 (0,05 М раствор)

Для приготовления раствора ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 1 моль/дм^3 (1 М раствор) в мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 6,9 см^3 ортофосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

Для приготовления раствора ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3 (0,05 М раствор) в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 50 см^3 1 М раствора ортофосфорной кислоты, доводят до метки водой, тщательно перемешивают.

7.11. Приготовление раствора гидроксида натрия с молярной концентрацией 1 моль/дм^3 (1 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 250 см^3, содержащую 100—150 см^3 бидистиллированной воды, помещают (10 ± 0,1) г натрия гидроксида, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.12. Подготовка фосфатного буферного раствора (pH 7,4)

7.12.1. Приготовление раствора натрия фосфорно-кислого двузамещенного с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3 (0,05 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают (17,9 ± 0,1) г двузамещенного фосфорно-кислого натрия ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$), растворяют в 700—800 см^3 дистиллированной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Хранят при комнатной температуре.

7.12.2. Приготовление раствора натрия фосфорно-кислого однозамещенного с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3 (0,05 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают (7,8 ± 0,1) г однозамещенного фосфорно-кислого натрия ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$), растворяют в 700—800 см^3 дистиллированной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Хранят при комнатной температуре.

7.12.3. Приготовление фосфатного буферного раствора (pH 7,4)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 800 $см^3$ 0,05 М раствора натрия фосфорно-кислого двузамещенного и 216 $см^3$ 0,05 М раствора однозамещенного фосфорно-кислого натрия, перемешивают. Контролируют pH буферного раствора с помощью pH-метра, доводят значение до pH 7,4, применяя 1М растворы едкого натра или ортофосфорной кислоты. Хранят при комнатной температуре.

7.13. Приготовление раствора натрия гидрокарбоната с молярной концентрацией 0,5 моль/$дм^3$ (0,5 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, содержащую 100—150 $см^3$ бидистиллированной воды, помещают (21 ± 0,1) г натрия углекислого кислого, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Хранят при комнатной температуре.

7.14. Подготовка ацетатного буферного раствора с молярной концентрацией 0,01 моль $дм^3$ (pH 4,0)

7.14.1. Приготовление раствора уксусно-кислого натрия с молярной концентрацией 0,2 моль/$дм^3$ (0,2 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают (27,2 ± 0,1) г ацетата натрия триводного ($Na_2C_2H_3O_2 \cdot 3H_2O$), растворяют в 700—800 $см^3$ дистиллированной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Хранят при комнатной температуре.

7.14.2. Приготовление раствора уксусной кислоты с молярной концентрацией 0,2 моль/$дм^3$ (0,2 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$, содержащую 100—150 $см^3$ бидистиллированной воды, помещают 11,4 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Хранят при комнатной температуре.

7.14.3. Приготовление 0,2 М ацетатного буферного раствора (pH 4,0)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 180 $см^3$ 0,2 М раствора натрия уксусно-кислого и 820 $см^3$ 0,02 М раствора уксусной кислоты, перемешивают. Контролируют pH буферного раствора с помощью pH-метра, доводят значение до pH 4,0, применяя 1 М раствор едкого натра или 0,2 М раствор уксусной кислоты. Хранят при комнатной температуре.

7.14.4. Приготовление 0,01 М ацетатного буферного раствора (pH 4,0)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 50 $см^3$ 0,2 М ацетатного буферного раствора, доводят водой до метки, перемешивают.

7.15. Подготовка концентрирующих патронов C18 Sep Pak Classic

Патрон устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума**. Сверху в патрон устанавливают медицинский шприц объемом не менее 10 $см^3$, используемый в качестве емкости для элюента.

Концентрирующий патрон промывают последовательно метанолом, бидистиллированной водой, затем 0,05 М раствором ортофосфорной кислоты, порциями по 3 $см^3$ Процедуру проводят с использованием вакуума, скорость потока растворителей через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин, при этом нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.16. Проверка хроматографического поведения биспирибака на концентрирующем патроне C18 Sep Pak Classic

В круглодонную колбу вместимостью 50 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора № 1 биспирибака кислоты с концентрацией 10 мкг/$см^3$ (п. 7.8.2.1), растворитель упаривают досуха при температуре не выше 35 °С, остаток растворяют в 10 $см^3$ 0,05 М раствора ортофосфорной кислоты и вносят на концентрирующий патрон, подготовленный по п. 7.15. Скорость прохождения раствора через патрон не должна превышать 2—3 кап./с. Элюат отбрасывают.

Промывают патрон 10 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (15 : 85, по объему). Высушивают патрон пропусканием воздуха (с использованием вакуума) в течение 5 мин. Биспирибак кислоту элюируют с патрона 4 $см^3$ смеси дихлорметан–метанол (65 : 35, по объему), собирая 2 порции элюата по 2 $см^3$ каждая непосредственно в круглодонные колбы. Растворы в колбах упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Остаток в каждой колбе растворяют в 2 $см^3$ подвижной фазы (приготовленной по п. 7.6) и анализируют содержание биспирибака кислоты по п. 9.3.1. При обнаружении вещества только в первой фракции элюирование биспирибака кислоты с патрона осуществляют 2 $см^3$ смеси дихлорметан–метанол (65 : 35, по объему), при наличии его в обеих, объем элюента увеличивают до 4 $см^3$.

Примечание: Проверку хроматографического поведения биспирибака кислоты следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии патронов и растворителей.

---

* В отсутствие специального аллонжа, жидкость продавливают через патрон с помощью шприца, скорость продавливания раствора не должна превышать 2—3 кап./с.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ: вода – Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб»; почва – 17.4.3.01—83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб», 28168—89 «Почвы. Отбор проб», рис – 6293—90 «Рис. Требования при заготовках и поставках» и «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (от 21.08.79 № 2051—79).

Отобранные пробы воды хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более суток. Почву, зерно и солому риса подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в защищенном от света месте при комнатной температуре не более месяца. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С. Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, почвы – просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм, зерна и соломы – измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

Образец отфильтрованной воды объемом 100 $см^3$ помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$ с пришлифованной пробкой, доводят pH раствора до 2 (контроль по pH-метру) с помощью ортофосфорной кислоты 85 %-й раствор.

Подготовленную пробу вносят на концентрирующий патрон С18 Sep Pak, подготовленный по п. 7.15, со скоростью пропускания раствора 2—3 кап./с используя разряжение, создаваемое водоструйным насосом. Промывают патрон 10 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (15 : 85, по объему), элюат отбрасывают. Высушивают патрон пропусканием воздуха (с использованием вакуума) в течение 5 мин. Биспирибак кислоту элюируют с патрона 2 $см^3$ или 4 $см^3$ (в соответствии с п. 7.16) смеси дихлорметан–метанол (65 : 35, по объему), собирая элюат в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 50 $см^3$, Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха, остаток растворяют в 0,5 $см^3$ подвижной фазы, приготовленной по п. 7.6. и анализируют содержание биспирибака кислоты по п. 9.3.1.

9.2. Почва, зерно и солома риса

9.2.1. Экстракция

Образец воздушно-сухой почвы массой 50 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 400—500 $см^3$, вносят 200 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (9 : 1, по объему) и экстрагируют 15 мин на ультразвуковой бане, затем помещают на механический встряхиватель на 30 мин.

Образец измельченного зерна массой 50 г или соломы риса массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 400—500 $см^3$, вносят 200 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (4 : 1, по объему) и экстрагируют 15 мин на ультразвуковой бане, затем помещают на механический встряхиватель на 30 мин.

Пробе дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр «красная лента». Почвенный и растительный остаток промывают на фильтре дважды по 50 $см^3$ ацетонитрила. Объединенный отфильтрованный экстракт и промывки переносят в колбу для упаривания на 500 $см^3$ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до объема 30—40 $см^3$. Очищают перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2.2, затем на концентрирующем патроне С18 Sep Pak Classic по п. 9.2.3.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водный остаток в колбе, полученный по п. 9.2.1 переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 25 $см^3$ фосфатного буферного раствора (pH 7,4), предварительно обмыв им колбу, в которой находилась проба, вносят 10 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия и 50 $см^3$ 0,5 М раствора гидрокарбоната натрия, встряхивают воронку 1 мин. Вносят в воронку 70 $см^3$ этилацетата, интенсивно встряхивают в течение 2 мин, после полного разделения фаз верхний органический слой отбрасывают. Водную фазу обрабатывают этилацетатом еще 2 раза, используя по 50 $см^3$ растворителя, при встряхивании 1—2 мин. Верхний органический слой отбрасывают.

Водную фазу возвращают в делительную воронку, вносят 2 $см^3$ 85 %-й ортофосфорной кислоты и 20 $см^3$ 0,01 М ацетатного буферного раствора (pH 4), встряхивают воронку 1 мин. Затем в воронку вносят 50 $см^3$ этилацетата, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз верхний органический слой переносят в коническую колбу на 250—300 $см^3$. Экстракцию биспирибака кислоты повто-

ряют еще дважды порциями этилацетата объемом 50 $см^3$. Для обеспечения лучшего расслаивания проб, раствор переносят в центрифужный стакан и центрифугируют 5 мин при 3 000 об./мин. Объединенный этилацетатный экстракт фильтруют через слой (около 60 г) безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в химическую воронку, в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 $см^3$, упаривают досуха. Остаток растворяют в 10 $см^3$ 0,05 М раствора ортофосфорной кислоты (pH 2) и дополнительно очищают на концентрирующем патроне С18 Sep Pak Classic по п. 9.2.3.

9.2.3. Очистка экстракта на концентрирующем патроне С18 Sep Pak Classic

Водный раствор, полученный по п. 9.2.2, вносят на концентриующий патрон С18 Sep Pak Classic, подготовленный по п. 7.15. Скорость прохождения раствора через патрон не должна превышать 2—3 капли в секунду. Элюат отбрасывают.

Промывают патрон 10 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (15 : 85, по объему), элюат отбрасывают. Высушивают патрон пропусканием воздуха (с использованием вакуума) в течение 5 мин. Биспирибак кислоту элюируют с патрона 2 или 4 $см^3$ (в соответствии с п. 7.16) смеси дихлорметан–метанол (65 : 35, по объему), собирая элюат в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 50 $см^3$. Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха, для полного удаления следов влаги вносят в колбу 3—5 $см^3$ ацетонитрила и вновь упаривают. При измерении уровней действующего вещества методом ВЭЖХ остаток растворяют в 5 $см^3$ подвижной фазы, приготовленной по п. 7.6 и анализируют содержание биспирибака кислоты по п. 9.3.1. При определении вещества методом ГЖХ (по п. 9.3.2) остаток в колбе обрабатывают диазометаном для превращения биспирибака кислоты в соответствующий метиловый эфир по п. 9.2.4.

9.2.4. Дериватизация

В колбу с сухим остатком вносят 3 $см^3$ раствора диазометана, выдерживают 30 мин при комнатной температуре. Вносят в колбу 0,1 $см^3$ н-пропанола, отдувают растворитель потоком теплого воздуха (не помещая колбу на подогретую водяную баню) до влажного остатка. Вносят в колбу 1 $см^3$ гексана и вновь отдувают растворитель до влажного остатка (отсутствие запаха эфира).

Остаток растворяют в 2 $см^3$ этилацетата и анализируют методом ГЖХ в условиях хроматографирования по п. 9.3.2.

9.3. Условия хроматографирования

9.3.1. Метод ВЭЖХ

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны.

Рабочая длины волн: 247 нм.

Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Eclipse XDB C18, зернение 5 мкм.

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,2 % ортофосфорная кислота (45 : 55, по объему).

Скорость потока элюента: 0,8 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Ориентировочное время выхода биспирибака-кислоты: 10,63—10,75 мин.

Линейный диапазон детектирования 1—10 нг.

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков вещества (в мЕА · с), находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию биспирибака-кислоты в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой, приготовленной по п. 7.6, не более, чем в 50 раз.

9.3.2. Метод ГЖХ

Хроматограф газовый с термоионным детектором.

Колонка капиллярная VF-5ms, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм

Температура детектора: 320 °С

испарителя: 250 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 230 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 20 град./мин до температуры 270 °С, выдержка 10 мин, нагрев колонки со скоростью 10 град./мин до температуры 280 °С.

Скорость газа 1 (азот): давление 87,70 кПа.

Газ 2 (азот): деление потока 1 : 3,5; сброс 5,3 $см^3$/мин

Водород – 11 $см^3$/мин.

Воздух – 200 $см^3$/мин.

Хроматографируемый объем 2 $мм^3$.

Ориентировочное время удерживания метилового биспирибака-кислоты – 17,77 мин.

Линейный диапазон детектирования: 0,5—5,0 нг.

Пробу вводят в испаритель хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков метилового эфира действующего вещества (в мВ · с), находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию биспирибака-кислоты в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 2,5 мкг/см^3, разбавляют этилацетатом, не более чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

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

$$X = \frac{C \cdot V}{m}, \text{ где}$$

C – концентрация биспирибака-кислоты, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

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

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

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/дм^3, мг/кг;

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\overline{X} \pm \Delta)$ мг/дм^3, мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$,

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/дм^3, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3, мг/кг;

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

U – граница расширенной неопределенности (табл. 1), %.

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

*«содержание биспирибака кислоты в пробе воды – менее 0,0005 мг/дм^3, почвы, зерна риса – менее 0,01 мг/кг, соломы риса – менее 0,05 мг/кг»**

** – 0,0005 мг/дм^3, 0,01 мг/кг, 0,05 мг/кг – предел обнаружения биспирибака кислоты в пробах воды, почвы, зерна, также соломы риса, соответственно.*

13. Контроль качества результатов измерений

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

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm \Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm \Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой), мг/дм^3, мг/кг, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3, мг/кг;

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

U – граница расширенной неопределенности (табл. 1), %.

Контрольный параметр 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, концентрация добавки, соответственно, мг/дм^3, 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 (2),

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

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, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/дм^3, мг/кг;

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

14. Разработчики

Ракитский В. Н., Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н., Горячева Л. В. (ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора).

gost.e-ecolog.ru