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 Этаметсульфурон-метила в семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

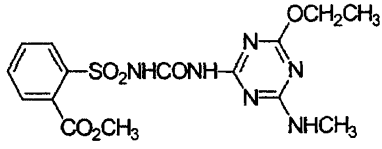
Методические указания
МУК 4.1.2908—11

Свидетельство о метрологической аттестации № 0091.05.05.11 от 11.05.2011.

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств Этаметсульфурон-метила в семенах и масле рапса в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Метил-2-[(4-этокси-6-метиламино-1,3,5-триазин-2-ил)карбамоилсульфамоил]бензоат.

Структурная формула:



Молекулярная масса: 410,4.

Эмпирическая формула: $C_{15}H_{18}N_6O_6S$.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: белый, без запаха.

Давление паров: $7{,}73 \times 10^{-10}$ мПа (при 25 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: K_{ow} logP 0,89(pH 7), 1,558 (pH 5).

Температура плавления: 194 °С.

Растворимость в воде (мг/дм^3, 25 °С): 1,7 (pH 5), 50 (pH 7), 410 (pH 9).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С): ацетон – 1,6; ацетонитрил – 0,83, дихлорметан – 3,9; метанол – 0,35; этанол – 0,17; этилацетат – 0,68.

Константа диссоциации (pKa) (при 25 °С): 4,6 (слабая кислота).

Стабилен при pH 7 и pH 9.

Подвергается гидролизу, T_{50} составляет при pH 5 – 41 день.

Краткая токсикологическая характеристика: Этаметсульфурон-метил относится к веществам мало опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг) и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг), но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 5 700 мг/м^3). Не раздражает кожу и слабо раздражает слизистую оболочку глаз. Онкогенных, мутагенных, тератогенных свойств Этаметсульфурон-метила не выявлено.

Область применения: Этаметсульфурон-метил – послевсходовый гербицид системного действия, проникающий преимущественно через листья растений и ингибирующий фермент ацетолактатсинтазу. Подавляет развитие однолетних и многолетних двудольных сорняков в посевах рапса с нормой расхода 15—30 г д.в./га.

В России проходит регистрационные испытания в качестве гербицида в посевах ярового и озимого рапса с нормой расхода 25 г/га.

В России гигиенические нормативы не установлены.

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 Этаметсульфурон-метила

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 рапса	0,02—0,1 вкл.	50	0,91	2,53	3,54
	0,1—0,2 вкл.	25	2,91	8,09	11,33
Масло рапса	0,02—0,1 вкл.	50	1,44	4,01	5,62
	0,1—0,2 вкл.	25	1,53	4,25	5,95

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для Этаметсульфурон-метила

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 рапса	0,02	0,02—0,2	77,01	2,07	0,75
Масло рапса	0,02	0,02—0,2	74,96	2,25	0,79

2. Метод измерений

Метод основан на определении Этаметсульфурон-метила с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на концентрирующих патронах Диапак Амин.

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 измерения

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 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 жидкостный 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 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Этаметсульфурон-метил, CAS 97780-06-8, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,9 %, 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
Аммоний уксусно-кислый (аммония ацетат) безводный, (98 %, CAS 631-61-8), фирма «Acros Organics»	
Вода дистиллированная и (или)	ГОСТ 6709—72

бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	
Гелий, очищенный марки «А»	ТУ 51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцово-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Калий фосфорно-кислый двузамещённый, 3-х водный, чда	ГОСТ 2493—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61—75
Концентрирующие патроны Диапак Амин (0,6 г), фирма «БиоХимМак СТ»	ТУ 4215-002-05451931—94
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, кислый, хч	ГОСТ 4201—79
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Натрия гидроокись, хч	ГОСТ 4328—77
Спирт метиловый (метанол), хч	ГОСТ 6995
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 Амин	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1»	
Банки с крышками для экстракции на 250 $см^3$, полипропилен, кат. № 3120-0250, фирма «NALGENE»	
Ванна ультразвуковая «UNITRA» UNIMA OLSZTYN UM-4	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней B-480, фирма «Buchi»	
Кислота соляная, хч	ГОСТ 3118—77
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82

Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250, 1 000 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 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
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 для проведения анализа, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах Диапак Амин, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон, 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 мар-

ганцово-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 к нему марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 ч, а затем перегоняют.

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

7.1.4. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают равным объемом 5 % раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 ч. Затем этилацетат сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Этилацетат перегоняют при температуре 77,1 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 77,1 °С, отбрасывают.

7.1.5. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5 %-го раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 ч. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Хлористый метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил, 0,01 М водный раствор уксусной кислоты и спирт метиловый.

В плоскодонную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 350 см^3 ацетонитрила, 50 см^3 метанола и 550 см^3 0,01 М водного раствора уксусной 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.

7.2.2. Приготовление рабочих растворов

7.2.2.1. Приготовление 0,01 М водного раствора уксусной кислоты.

В мерную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 500 см^3 очищенной воды и 600 мг ледяной уксусной кислоты, перемешивают, доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой). Раствор используют для приготовления подвижной фазы. Раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.2.2. Приготовление 0,01 М водного раствора аммония уксусно-кислого.

В мерную колбу объемом 1 000 см^3 переносят 700 мг аммония уксусно-кислого, добавляют 500 см^3 очищенной воды и перемешивают до полного растворения соли. Доводят водой объем в колбе до метки и еще раз тщательно перемешивают. Раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.2.3. Приготовление 6 М раствора соляной кислоты.

Мерным цилиндром отбирают 246 см^3 концентрированной соляной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 500 см^3, куда предварительно наливают около 100 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). Раствор хранят не более 6 месяцев при комнатной температуре.

7.2.2.4. Приготовление 0,05 М раствора двузамещенного фосфорнокислого калия.

В мерную колбу на 500 см^3 переносят 5,7 г $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ и 50 г NaCl, добавляют 200—300 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают до полного растворения солей, проверяют pH полученного раствора. Если pH раствора менее 9, доводят его до указанного значения с помощью 1 М раствора гидроокиси натрия, контролируя pH. После достижения нужного значения pH объем доводят водой до метки. Раствор хранят не более 3 месяцев при комнатной температуре.

7.2.2.5. Приготовление раствора для разведения проб и приготовления стандартных растворов.

Мерным цилиндром отмеряют 15 см^3 ацетонитрила и помещают в плоскодонную колбу объемом 100 см^3. Туда же помещают 85 см^3 0,01 М водного раствора аммония уксусно-кислого. Смесь тщательно перемешивают и используют для приготовления стандартных растворов для хроматографирования и растворения проб перед хроматографированием. Раствор хранят не более 2 недель при комнатной температуре.

7.2.3. Приготовление градуировочных растворов

7.2.3.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией Этаметсульфурон-метила 100,0 мкг/см^3.

Взвешивают 10 мг Этаметсульфурон-метила в мерной колбе объемом 100 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 3 месяцев.

7.2.3.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией Этаметсульфурон-метила 10,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией Этаметсульфурон-метила 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 смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией Этаметсульфурон-метила 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 смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 4 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией Этаметсульфурон-метила 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 смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 5 используется для приготовления стандартных растворов и для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией Этаметсульфурон-метила 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 смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 6 используется для приготовления стандартных растворов для построения установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.7. Стандартный раствор с концентрацией Этаметсульфурон-метила 1,0 мкг/см^3 (в ацетонитриле).

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 изучения хроматографического поведения Этаметсульфурон-метила на концентрирующих патронах Диапак Амин. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более не более 1 месяца.

7.2.3.8. Стандартные растворы Этаметсульфурон-метила в ацетоне с концентрацией 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 для внесения в образцы.

Из стандартного раствора № 2 методом последовательного разведения ацетоном готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы. Растворы готовят непосредственно перед внесением в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики.

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Этаметсульфурон-метила 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. 9.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения Этаметсульфурон-метила на них

7.4.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см^3/мин.

Патрон Диапак Амин 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 $см^3$ этилацетата. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения Этаметсульфурон-метила на концентрирующих патронах Диапак Амин

Из стандартного раствора Этаметсульфурон-метила в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 100 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 $см^3$.

Исходный концентратор обмывают последовательно двумя порциями по 10 $см^3$ этилацетата, затем 5 $см^3$ 0,1 %-й уксусной кислоты в этилацетате и 10 $см^3$ 2 %-й уксусной кислоты в этилацетате, наносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции собирают в концентратор объемом по 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Этаметсульфурон-метил, полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения Этаметсульфурон-метила на концентрирующих патронах Диапак Амин 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 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 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р 53457—2009 «Масло рапсовое. ТУ» и ГОСТ Р 52062—2003 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб».

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

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

9. Подготовка проб и выполнение измерений

9.1. Семена рапса

9.1.1. Экстракция

Образец измельченных семян рапса массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, прибавляют 50 $см^3$ этилацетата и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну. Экстракт декантируют в коническую колбу объемом 250 $см^3$ через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ этилацетата и помещая на 5 мин в ультразвуковую ванну. Экстракты объединяют в конической колбе объемом 250 $см^3$, а затем фильтруют через фильтр «красная лента» в делительную воронку объемом 250 $см^3$.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Этаметсульфурон-метил экстрагируют из этилацетатного экстракта, полученного по п. 9.1.1, четырьмя порциями по 30 $см^3$ 0,05 М щелочного буфера (pH 9), приготовленного по п. 7.2.2.4, каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной нижний водный слой с небольшим количеством эмульсии объединяют в конической колбе объемом 250 $см^3$. После четвертой экстракции верхний этилацетатный слой отбрасывают, а объединенный водный экстракт возвращают в делительную воронку и выдерживают 5 мин. Затем нижний водный слой переносят в чистую коническую колбу объемом 250 $см^3$, а выделившийся верхний этилацетатный слой отбрасывают.

Водный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ и промывают 50 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. Водный слой возвращают в делительную

воронку и промывают двумя порциями хлористого метилена по 30 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой хлористого метилена отбрасывают.

Водный остаток фильтруют через фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250 см^3, подкисляют 6 М соляной кислотой до pH 3 и переносят в делительную воронку объемом 250 см^3. Этаметсульфурон-метил экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) объединяют в концентраторе объемом 250 см^3, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак Амин

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 5 см^3 этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, и вносят на предварительно кондиционированный патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают последовательно двумя порциями по 10 см^3 этилацетата и одной порцией объемом 5 см^3 0,1 % уксусной кислоты в этилацетате и вносят на патрон, элюаты отбрасывают. Этаметсульфурон-метил элюируют 10 см^3 2 % уксусной кислоты в этилацетате. Элюат собирают в концентратор объемом по 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 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85 и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.2. Масло рапса

9.2.1. Экстракция и очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Из пробы рапсового масла отбирают в стакан навеску массой 10 г и переносят ее в делительную воронку объемом 250 см^3 двумя порциями гексана объемом по 30 см^3. Этаметсульфурон-метил экстрагируют тремя порциями по 30 см^3 0,05 М щелочного буфера (pH 9), приготовленного по п. 7.2.2.4, каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой с небольшим количеством эмульсии объединяют к конической колбе объемом 100 см^3. После третьей экстракции верхний гексановый слой отбрасывают, а объединенный водный экстракт возвращают в

делительную воронку и выдерживают 5 мин. Затем нижний водный слой переносят в чистую коническую колбу объемом 100 $см^3$, а выделившийся верхний гексановый слой отбрасывают.

Водный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ и промывают двумя порциями по 30 $см^3$ гексана, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. Водный слой возвращают в делительную воронку и промывают двумя порциями хлористого метилена по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой хлористого метилена отбрасывают.

Водный остаток фильтруют через фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250 $см^3$, подкисляют 6 М соляной кислотой до pH 3 и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Этаметсульфурон-метил экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак Амин.

После очистки элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. 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–метанол–0,01 М уксусная кислота в соотношении 35 : 5 : 55.

Длина волны: 240 нм.

Время удерживания Этаметсульфурон-метила: 12,606 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

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

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Этаметсульфурон-метила рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Этаметсульфурон-метила 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 Этаметсульфурон-метила 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 0,02 мг/кг»**

** – 0,02 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—2002 «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 Этаметсульфурон-метила проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 3 месяца, при смене основных градуировочных растворов № 2, 3, 4, 5 и 6 – каждый месяц, а также в начале и окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание Этаметсульфурон-метила в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,1 до 1,0 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 2{,}66, \text{ где}$$

X – концентрация Этаметсульфурон-метила контрольного измерения, мкг/см^3;

С – известная концентрация градуировочного раствора Этаметсульфурон-метила в смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксуснокислого аммония в соотношении 15 : 85, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

2,66 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (*А*) превышает 2,66 %, 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 Этаметсульфурон-метила, 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:

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

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – 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 *К* 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