Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2076—4.1.2088—06

Издание официальное

Москва, 2009

gost.e-ecolog.ru

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2076—4.1.2088—06

Издание официальное

ББК 51.21
О37

О37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 — 188с.

1. Сборник подготовлен Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); при участии специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 11,75

Тираж 100 экз.

Тиражировано отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

Содержание

1. Методические указания по определению остаточных количеств глюфосинат аммония и его метаболита в зерне гороха газохроматографическом методом. МУК 4.1.2076-06.....4
2. Методические указания по измерению концентраций дикамбы в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2077-06.....22
3. Методические указания по определению остаточных количеств квинклорака в зерне риса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2078-06.....35
4. Методические указания по определению остаточных количеств квинклорака в зерне риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2079-06.....49
5. Методические указания по определению остаточных количеств люфенурона в томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2080-06.....62
6. Методические указания по определению остаточных количеств метамитрона в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной, столовой и кормовой свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2081-06.....72
7. Методические указания по определению остаточных количеств Трибенурон-метила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2082-06.....87
8. Методические указания по определению остаточных количеств тиаметоксама в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2083-06.....106
9. Методические указания по определению остаточных количеств тебуконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2084-06.....120
10. Методические указания по измерению концентраций тринексапак-этила в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2085-06.....132
11. Методические указания по определению остаточных количеств тринексапак-этила и его основного метаболита тринексапака-кислоты в воде, тринексапак-этила по метаболиту тринексапаку-кислоте в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2086-06.....142
12. Методические указания по определению остаточных количеств Альфа-циперметрина в семенах и масле рапса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2087-06.....162
13. Методические указания по измерению концентраций эсфенвалерата в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2088-06.....176

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы

по надзору в сфере защиты прав

потребителей и благополучия человека,

Главный государственный санитарный врач

Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

«30» июля 2006 г.

Дата введения – с 1 сентября 2006 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

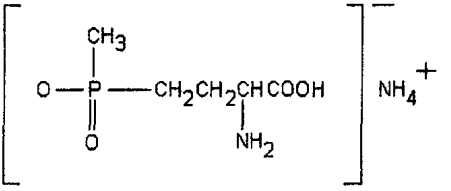
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ГЛЮФОСИНАТ АММОНИЯ И ЕГО МЕТАБОЛИТА В ЗЕРНЕ ГОРОХА ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

МУК 4.1.2076-06

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации глюфосинат аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в зерне гороха в диапазоне 0,2 – 2,0 мг/кг.

Глюфосинат аммоний – действующее вещество десиканта Баста, ВР (150 г/л), фирма производитель Байер КропСайенс (Германия).

Аммоний DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфинат (I) (ИЮПАК)



$C_5H_{15}N_2O_4P$

Мол. масса: 198,2

Бесцветный кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Температура плавления: 215 ^{0}C. Давление паров при 20 ^{0}C: < 0,1 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P < 0,1. Растворимость (г/л) при 20^{0}C: вода-1370, ацетон-0,16, этанол-0,65; этилацетат-0,14 , толуол-0,14 , гексан-0,2.

Вещество стабильно при нормальных условиях хранения, не гидролизуется в умеренно кислых и щелочных средах.

Достаточно быстро разрушается в воде и почве: DT_{50} в воде = 2-30 дней, DT_{50} в почве = 3-20 дней.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 1620-2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - 1,26-2,9 мг/м^3 воздуха. Глюфосинат аммоний не вызывает раздражения кожи. LC_{50} для рыб 710 мг/дм^3 (96 час.).

Глюфосинат аммоний не обладает тератогенным, канцерогенным и мутагенным действием. Он нетоксичен для водорослей, дафний, дождевых червей, пчел, птиц и диких животных.

Гигиенические нормативы для глюфосинат аммония в России: ОДК в почве - 0,1 мг/кг; ОДУ в воде - 0,01 мг/дм^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны - 0,04 мг/м^3; МДУ для плодовых, ягодных и цитрусовых культур, винограда, моркови и картофеля - 0,2 мг/кг, для подсолнечника, гречихи, проса, рапса, льна, зернобобовых, хлебных злаков и растительных масел - 0,4 мг/кг.

Область применения препарата

Глюфосинат аммоний (I) - неселективный контактный гербицид с ограниченной системностью, передвигающийся только внутри обработанных листьев. В процессе поступления в растение вещество диссоциирует и в клетках присутствует только глюфосинат свободная кислота (II). Гербицид используется для уничтожения однолетних и многолетних широколистных и злаковых сорняков в парах, посадках плодовых и цитрусовых культур, ягодных кустарниках и виноградниках путем направленного опрыскивания в период активного роста сорных растений, а также на овощных культурах при довсходовом применении препарата. Глюфосинат аммоний применяется также для десикации ботвы картофеля, подсолнечника, клещевины, люцерны и сеникации яровой пшеницы.

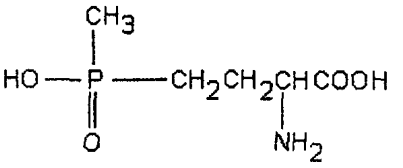
Проходит перерегистрацию в России и странах СНГ под торговым названием Баста, ВР (150 г/л) в качестве десиканта на посевах гороха при норме расхода

препарата до 2,0 л/га и однократной обработке в фазе побурения 70-75% бобов 5-6 нижних ярусов.

Глюфосинат аммоний в воде и растениях подвергается разрушению, в результате чего образуется 3-метилфосфино-пропионовая кислота (III).

Глюфосинат свободная кислота

DL - гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфиновая кислота (II) (ИЮПАК)

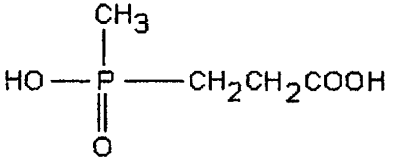


$C_5H_{12}NO_4P$

Мол. масса: 181,1

Метаболит глюфосинат аммония

3 - метилфосфино-пропионовая кислота (III) (ИЮПАК)



$C_4H_9O_4P$

Мол. масса: 152,1

1. Метрологические характеристики 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 таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Определяемое вещество	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, %
Глюфосинат аммоний	от 0,2 до 2,0	25	5,1	14,3	22,1
3-метилфосфинопропионовая кислота	от 0,2 до 2,0	25	5,4	15,1	23,4

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для полного диапазона концентраций (n=20) приведены в таблице 2

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для n=20, P = 0,95

Определяемое вещество	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Зерно					
Глюфосинат аммоний	0,2	0,2 - 2,0	83,9	4,4	± 4,7
3-метилфосфинопропионовая кислота	0,2	0,2 - 2,0	83,3	5,3	± 5,6

2. Метод измерения

Методика основана на определении веществ с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) на фосфорсодержащие вещества. Контроль глюфосинат аммония и его метаболита 3-метилфосфинопропионовой кислоты в образцах зерна гороха осуществляется по

содержанию веществ после экстракции их из анализируемого образца водой и очистки экстрактов на анионообменной смоле Дауэкс-1х8, дериватизации веществ с помощью триметилортоацетата в кислой среде и последующей очистки полученных производных на колонках с силикагелем и оксидом алюминия. В результате дериватизации глюфосинат аммоний превращается в метил-4-(метоксиметил)фосфинил-2-ацетамидобутират (IV), а метаболит - в метил-3-(метоксиметил)фосфинилпропионат (V).

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ТИД (СКБ «Хроматэк», Россия)	Номер госреестра № 14516-95
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,036 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1.0;2,0; 5,0; 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Глюфосинат аммоний (I), аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,2% (Байер, Германия)

Глюфосинат свободная кислота (II), аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,9% (Байер, Германия)

3-метилфосфино-пропионовая кислота (III), аналитический стандарт с содержанием д.в. 97,9% (Байер, Германия)

Метил-4-(метоксиметил)фосфино-2-ацетамидобутират (IV), аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,9% (Байер, Германия)

Метил-3-(метоксиметил)фосфино-пропионат (V), аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,8% (Байер, Германия)

Аммиак водный (28-30% NH_3), чда	ГОСТ 3760
Вода деионизованная	ГОСТ 7602
Кислота муравьиная (98%), хч	ГОСТ 5848
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61-75
Метилацетат, ч	ТУ 6-09-09-300-87
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328
Натрия сульфат, безводный, хч	ГОСТ 4166
Спирт метиловый, хч	ГОСТ 6995
Толуол, хч	ГОСТ 5789

Триметилортоацетат (98%) /Мерк, Германия/

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), осч	ГОСТ 9293
Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851-78

Анионообменная смола Дауэкс 1х8 (Cl^--форма,50-100 меш) /Супелко, США/

Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)
или аналогичная

Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 см	ГОСТ 25336

Генератор водорода, модель SPE, фирма General Electric (США)
или аналогичный

Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Иономер ЭВ-74 или аналогичный	ГОСТ 22261
Колба Бунзена	ГОСТ 5614
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100, 250 $см^3$	ГОСТ 9737

Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см,
внутренним диаметром 8-10 мм

Компрессор (СКБ "Хроматэк", Россия)	№ 3456

Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Оксид алюминия 90 (0,063-0,2 мм), нейтральный, для колоночной хроматографии I степени активности (Мерк, Германия)	
Плитка электрическая	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или	ТУ 25-11-917-74
ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)	
Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии I степени активности (Мерк, Германия)	
Стаканы химические вместимостью 100, 500 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Фильтры бумажные "красная лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	
Холодильник водяной обратный	ГОСТ 9737
Центрифуга	МРТУ 42-219
Шприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 10 $мм^3$ (Hamilton, США)	

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

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

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

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя с опытом работы на газовом хроматографе.

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)^{0}С и относительной влажности не более 80%.
- выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов и анионообменной смолы, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонок с анионообменной смолой и силикагелем.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания последней в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.2. Очистка метилацетата

Метилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия, перегоняют.

7.1.3. Очистка силикагеля

Силикагель встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130^{0}С в течение 5 часов.

7.2. Приготовление 10%-ного раствора муравьиной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 200-300 см^3 деионизованной воды, добавляют 100 см^3 98%-ной муравьиной кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Приготовление 1 М раствора гидроксида натрия

40 г NaOH переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, добавляют 500-600 см^3 деионизованной воды, перемешивают до полного растворения осадка, охлаждают раствор до комнатной температуры, доводят водой до метки, вновь перемешивают.

7.4. Приготовление 0,015 М раствора водного аммиака

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 10 см^3 водного аммиака (содержит 28-30% NH_3), добавляют 500 см^3 деионизованной воды, перемешивают и доводят водой до метки.

7.5. Подготовка анионообменной смолы и колонки

В химический стакан вместимостью 2000 см^3 помещают 100 г анионообменной смолы Дауэкс 1х8 (Cl-форма), приливают 1000 см^3 1М раствора гидроксида натрия и суспензию перемешивают в течение 2-х мин. Через 30 мин. суспензию фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Смолу на фильтре промывают деионизованной водой до тех пор, пока pH фильтрата не снизится до 5,5-7. Обычно для приготовления 100 г смолы расходуют 3-5 дм^3 деионизованной воды.

В нижнюю часть стеклянной колонки (1,2х25 см) помещают тампон из стекловаты и в колонку (при открытом кране) медленно выливают суспензию смолы в воде таким образом, чтобы высота сорбента составила 12 см. Колонку промывают 30 см^3 деионизованной воды со скоростью 1-2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

7.6. Подготовка колонки с оксидом алюминия

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10-12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 10 г оксида алюминия I степени активности в 15 см^3 метилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 см^3 метилацетата со скоростью 1-2 капли в сек. После этого колонка готова к работе.

7.7. Подготовка колонки с силикагелем

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной.25 см и внутренним диаметром 10-12 мм помещают тампон из стекловаты и в колонку (при открытом кране) медленно выливают суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 10 см^3 метилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 10 см^3 метилацетата со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

7.8. Проверка хроматографического поведения глюфосинат аммония и его метаболита на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают по 0,5 $см^3$ градуировочных растворов № 1 дериватов глюфосинат аммония и метаболита с концентрацией 10 $мкг/см^3$ в метилацетате (п. 7.10.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 $см^3$ метилацетата. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.7. Промывают колонку 30 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку последовательно промывают 30 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (9:1, по объему) и 40 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (8:2, по объему). Фракционно (по 10 $см^3$) отбирают элюат, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^0С до объема 0,5-1 $см^3$. Раствор переносят в градуированную пробирку вместимостью 5 $см^3$, колбу промывают 1 $см^3$ метилацетата, который также переносят в пробирку. Доводят метилацетатом объем в пробирке до 4 $см^3$ и анализируют на содержание дериватов по п. 9.5. Первые три фракции, содержащие дериват метаболита, анализируют по п. 9.5.2., а последующие четыре, содержащие дериват глюфосинат аммония, по п. 9.5.1.

ПРИМЕЧАНИЕ. При использовании новой партии сорбента или растворителей проводится проверка хроматографического поведения дериватов глюфосинат аммония и его метаболита на колонке.

7.9. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Готовую насадку (3% FFAP на Хромосорбе W/HP) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 250 ^{0}С в течение 8-10 часов.

7.10. Приготовление градуировочных растворов

7.10.1. Исходные растворы дериватов глюфосинат аммония и его метаболита (3-метилфосфино-пропионовая кислота) для градуировки (концентрация 1 мг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободной кислоты). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 139 мг метил-4-(метоксиметил)фосфинил-2-ацетамидобутирата (IV, дериват глюфосинат аммония) или 100 мг метил-3-(метоксиметил)фосфинилпропионата (V, дериват метаболита), растворяют в 40-50 $см^3$ метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают.

Растворы хранят в морозильной камере при температуре не выше -18^0С в течение 3-х месяцев.

7.9.2. Растворы дериватов глюфосинат аммония и его метаболита № 1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободной кислоты). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного раствора деривата глюфосинат аммония (или деривата метаболита) с концентрацией 1 мг/см^3 (п.7.9.1.) , разбавляют метилацетатом до метки.

Градуировочные растворы № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение месяца.

7.9.3. Рабочие растворы №№ 2-5 дериватов глюфосинат аммония и его метаболита для градуировки (концентрация 0,1 – 1,0 мкг/см^3 в пересчете *на эквивалент глюфосинат свободная кислота).* В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 градуировочного раствора № 1 деривата глюфосинат аммония (или деривата метаболита) с концентрацией 10 мкг/см^3 (п.7.9.2.), доводят до метки метилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией глюфосинат аммония (или метаболита) 0.1,0.2, 0.5 и 1.0 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед употреблением.

7.11. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ*сек) от концентрации глюфосинат аммония (или его метаболита) в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

7.12. Приготовление растворов для фортификации

Отвешивают 109 мг глюфосинат аммония в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 60-70 см^3 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объем этим же растворителем до метки. Концентрация глюфосинат аммония в растворе (А) составляет 1 мг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота. Раствор А хранят в холодильнике не более месяца.

Отвешивают 84 мг 3-метилфосфино-пропионовой кислоты в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 60-70 см^3 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объем этим же растворителем до метки. Концентрация метаболита в растворе (В) составляет 1 мг/см^3 в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота. Раствор В хранят в холодильнике не более месяца.

Переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ по 1 $см^3$ растворов А и В и доливают 0,015 М раствор водного аммиака до метки, перемешивают. Концентрация глюфосинат аммония и его метаболита в растворе (С) составляет 10 $мкг/см^3$ в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота. Раствор хранят в холодильнике не более месяца.

Раствор С используют для приготовления проб зерна гороха с внесением при оценке полноты извлечения глюфосинат аммония и его метаболита из исследуемых образцов.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (N 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб». Отобранные пробы зерна гороха досушивают до стандартной влажности и хранят в матерчатых или бумажных мешочках при температуре 4^0С. Перед анализом семена измельчают на кофемолке.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция глюфосинат аммония и метаболита

Навеску (10 г) измельченного материала помещают в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ деионизованной воды и суспензию перемешивают в течение 30 минут на аппарате для встряхивания. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Остаток на фильтре промывают 50 $см^3$ деионизованной воды. Объединенный фильтрат переносят в мерный цилиндр вместимостью 250 $см^3$ и доводят деионизованной водой до объема 200 $см^3$. Отбирают аликвоту раствора (100 мл), эквивалентную 5 г растительного материала, в центрифужные пробирки и центрифугируют при 10000 g в течение 15 минут. Надосадочную жидкость используют для дальнейшей очистки по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта на колонке с анионообменной смолой

Аликвоту водного экстракта (из п.9.1.) вносят в подготовленную колонку с анионообменной смолой (п.7.5.) и раствор пропускают со скоростью 1-2 капли в секунду. Промывают колонку 50 $см^3$ деионизованной воды и затем элюируют глюфосинат аммоний и его метаболит 80 $см^3$ 10%-ной муравьиной кислоты с указанной выше скоростью. Элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 55^0С в грушевидной колбе вместимостью 250 $см^3$. К остатку приливают 10 $см^3$ деионизованной воды и раствор упаривают досуха.

9.3. Дериватизация

К сухому остатку (из п. 9.2.) приливают 3 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, перемешивают и колбу помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Затем в колбу добавляют 12 $см^3$ триметилортоацетата и несколько стеклянных кипелок и снова помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 4,5 часов на электроплитке. К охлажденной реакционной смеси трижды добавляют по 15 $см^3$ толуола и каждый раз упаривают содержимое на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^0C до объема 1-2 $см^3$. Дальнейшую очистку дериватов проводят по пп. 9.4. и 9.5.

ПРИМЕЧАНИЕ: При проведении дериватизации посуда и реактивы должны быть сухими.

9.4. Очистка на колонке с оксидом алюминия

К раствору дериватов глюфосинат аммония и метаболита в круглодонной колбе, полученного по п.9.3., добавляют 2 $см^3$ метилацетата и раствор переносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную п. 7.6. Колбу обмывают дважды порциями по 2 $см^3$ метилацетата , которые также наносят на колонку. Промывают колонку 30 $см^3$ метилацетата со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Дериваты глюфосинат аммония и метаболита элюируют с колонки 50 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (9:1, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40^0C до объема 0,5-1 $см^3$.

9.5. Очистка на колонке с силикагелем

К раствору дериватов глюфосинат аммония и метаболита в круглодонной колбе, полученного по п.9.4., добавляют 2 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему) и раствор переносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п.7.7. Колбу обмывают дважды порциями по 2 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 30 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (95:5, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Дериваты метаболита и глюфосинат аммония элюируют с колонки последовательно соответственно 30 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (9:1, по объему) и 40 $см^3$ смеси метилацетат-метанол (8:2, по оюбъему), собирая элюаты непосредственно в круглодонные колбы вместимостью 100 $см^3$. Растворы упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^0C до объема 0,5-1 $см^3$. Растворы переносят в градуированные пробирки вместимостью 10 см, колбы обмывают трижды порциями по

2 $см^3$ метилацетата, которые также переносят в пробирки. Доводят метилацетатом объем в пробирках до 10 $см^3$ и анализируют на содержание дериватов глюфосинат аммония и метаболита по пп. 9.6.1. и 9.6.2.

9.6. Условия хроматографирования

9.6.1. Анализ глюфосинат аммония

Газовый хроматограф "Кристалл 2000М" с термоионным детектором на фосфорсодержащие вещества с пределом детектирования (по фосфору в метафосе) не выше $2,82x10^{-14}$ г/куб.см

Колонка стеклянная, спиральная 1000 х 3 мм; неподвижная фаза 3% FFAP на Хромосорбе W/HP (0,12-0,15 мм)

Температура колонки – 230^{0}С, инжектора - 230 ^{0}С, детектора 300 ^{0}С

Скорость потока газа-носителя (азот) - 30 мл/мин

Расход водорода – 12,5 мл/мин

Расход воздуха - 200 мл/мин

Объем вводимой пробы - 2 мкл

Время удерживания метил-4-(метоксиметил)фосфинил-2-ацетамидобутирата: 2 мин. 50 сек.

Линейный диапазон детектирования – 0,2-2 нг

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют метилацетатом.

9.6.2. Анализ 3-метилфосфино-пропионовой кислоты

Газовый хроматограф "Кристалл 2000М" с термоионным детектором на фосфорсодержащие вещества с пределом детектирования (по фосфору в метафосе) не выше $2,82x10^{-14}$ г/куб.см

Колонка стеклянная, спиральная 1000 х 3 мм; неподвижная фаза 3% FFAP на Хромосорбе W/HP (0,12-0,15 мм)

Температура колонки – 178^{0}С, инжектора - 230 ^{0}С, детектора 300 ^{0}С

Скорость потока газа-носителя (азот) - 30 мл/мин

Расход водорода – 12,5 мл/мин

Расход воздуха - 200 мл/мин

Объем вводимой пробы - 2 мкл

Время удерживания метил-3-(метоксиметил)фосфинилпропионата: 2 мин. 10 сек.

Линейный диапазон детектирования – 0,2-2 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют метилацетатом.

10. Обработка результатов анализа

Содержание глюфосинат аммония (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}$$, где

H_1 - площадь пика образца, мВ*с;

H_0 - площадь пика стандарта, мВ*с;

А - концентрация стандартного раствора деривата глюфосинат аммония (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота), мкг/см^3;

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

m - масса анализируемого образца, г (для зерна - 5 г)

Содержание 3-метилфосфино-пропионовой кислоты (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}$$, где

H_1 - площадь пика образца, мВ*с;

H_0 - площадь пика стандарта, мВ*с;

А - концентрация стандартного раствора деривата метаболита (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота), мкг/см^3;

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

m - масса анализируемого образца, г (для зерна - 5 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):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r \qquad (1)$$

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/кг;

r- значение предела повторяемости (таблица 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:

$$(\overline{X} \pm \Delta) \text{ мг/кг при вероятности P= 0.95,}$$

где $\overline{X}$- среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta * X / 100,$$

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

В случае, если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

менее 0.2 мг/кг *

** - 0.2 мг/кг - предел обнаружения глюфосинат аммония и метаболита.*

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 прецинзионность) 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 с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\overline{X}} + \Delta_{л,\overline{X'}},$$

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

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$,

где Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * X / 100$,

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д,$$

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

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

$$К = \sqrt{\Delta^2_{л,\overline{X'}} + \Delta^2_{л,\overline{X}}}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($К_к$) с нормативом контроля (К).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|К_к| \leq К, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

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

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq R \qquad (3)$$

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

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

14. Разработчики

Дубовая Л.В., научн. сотр.; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук.

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20

Подпись руки Дубовой Л.В. и Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ

(Банюлис Г.Г.)

gost.e-ecolog.ru