Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник
МУК 4.1.2758—4.1.2767—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—163 с.

1. Методические указания разработаны ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора».

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 14.10.2010 № 2).

3. Введены впервые.

ББК 51.21

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

Содержание

Измерение концентраций клодинафоп-пропаргила в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2758—10 4

Измерение концентраций пропизохлора в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2759—10 18

Измерение концентраций мепикват хлорида в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2760—10 30

Определение остаточных количеств имидаклоприда в цитрусовых, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2761—10 46

Измерение концентраций метрафенона в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2762—10 62

Измерение концентраций мезосульфурон-метила, иодосульфурон-метил-натрия, дифлюфеникана и мефенпир-диэтила в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов хроматографическими методами: МУК 4.1.2763—10 75

Определение метрибузина в биологических средах экспериментальных животных (почках, печени, головном мозге, семенниках, моче, кале) методом капиллярной газожидкостной хроматографи: МУК 4.1.2764—10 ... 95

Измерение концентраций диметоата в атмосферном воздухе населенных мест методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2765—10 111

Измерение концентраций тиенкарбазон-метила, ципросульфамида и изоксафлютола в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2766—10 121

Измерение концентраций флуоксастробина, клотианидина, протиоконазола и тебуконазола в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов хроматографическими методами: МУК 4.1.2767—10 139

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
17 ноября 2010 г.
Дата введения: 17 декабря 2010 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

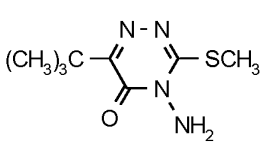
Определение метрибузина в биологических средах экспериментальных животных (почках, печени, головном мозге, семенниках, моче, кале) методом капиллярной газожидкостной хроматографи

Методические указания МУК 4.1.2764—10

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций метрибузина в биологических средах экспериментальных животных в диапазонах 0,004—0,04 мг/кг (почки, печень, семенники, кал), 0,01 – 0,1 мг/кг (головной мозг) и 0,001—0,01 мг/дм^3 (моча).

Метрибузин

4-амино-6-*трет*-бутил-4,5-дигидро-3-метилтио-1,2,4-триазин-5-он (IUPAC)



$C_8H_{14}N_4OS$

Мол. масса 214,3

Белое кристаллическое вещество со слабым характерным запахом. Температура плавления 126,2 °С. Плотность 1,28 (20 °С). Давление паров: 0,058 мПа (при 20 °С). Коэффициент распределения н-октанол/вода (при pH 5,5 и 20° °): $K_{OW}\log P = 1,6$. Растворимость в органических растворителях при 20 °С (г/дм^3): диметилформамид – 1 780, циклогексанон

– 1 000, хлороформ – 850, ацетон – 820, метанол – 450, дихлорметан – 340, бензол – 220, н-бутанол – 150, этанол – 190, толуол – 87, ксилол – 90, изопропанол – 77, гексан – 1,0. Растворимость в воде при 20 °С: 1,05 г/дм^3.

Метрибузин при 20 °С стабилен в разбавленных кислотах и щелочах; DT_{50} (37 °С) – 6,7 часа (pH 1, 2); DT_{50} (70 °С) – 569 часов (pH 4); 47 дней (pH 7), 191 час (pH 9).

Подвержен быстрой деградации в воде на свету (DT_{50} – менее 1 дня). На поверхности почвы при естественном облучении DT_{50} – 14—15 дней.

Область применения

Метрибузин – избирательный системный гербицид класса 1,2,4-триазинона, ингибирует фотосинтез. В растения проникает через корни и листья.

Препараты на основе метрибузина могут представлять собой стандартные суспензии (с размером частиц более 2 мкм), а также нанофармы, образующие водные системы с размером частиц менее 0,1 мкм.

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/кг (дм^3)	Показатель точности (граница относительной погрешности), ± δ, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Почки	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	4,5	13	15
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	4,9	14	17
Печень	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	5,0	14	17
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	5,2	15	19
Головной мозг	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,5	13	15
Семенники	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	4,9	14	17
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	4,8	13	15
Моча	от 0,001 до 0,01 вкл.	100	4,9	14	17
Кал	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	3,9	11	13
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	4,0	11	13

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/кг ($дм^3$)	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Почки	0,004	0,004—0,04	79,8	5,5	2,9
Печень	0,004	0,004—0,04	81,3	5,0	2,7
Головной мозг	0,01	0,01—0,1	81,7	4,2	2,2
Семенники	0,004	0,004—0,04	81,8	4,5	2,4
Моча	0,001	0,001—0,01	81,4	4,9	2,6
Кал	0,004	0,004—0,04	83,1	3,2	1,7

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным (ТИД) и электронозахватным (ЭЗД) детекторами после экстракции из анализируемых проб биологических сред ацетонитрилом, последовательной очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, окислением марганцовокислым калием в щелочной среде, затем на концентрирующих патронах Sep Pak Silica и C18 Sep Pak.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный электронозахватным и термоионным детектором с пределом детектирования соответственно по линдану $3,5 \cdot 10^{-14}$ г/с, и азоту в азобензоле $3,0 \cdot 10^{-14}$ гР/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
Колбы мерные 2-100-2, 2-500-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ 7328—2001
Микрошприц SGE-Cromatec, вместимостью 10 мм^3	Номер Госреестра 39206-08
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 и 500 см^3	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Метрибузин, государственный стандартный образец с содержанием действующего вещества 99,7 %, относительная погрешность аттестованного значения ± 0,3 %	ГСО 7713—99
Азот газообразный нулевой, марка А (99,999 %), в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода деионизованная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан, для ВЭЖХ	ТУ 6-09-06-657—84
Калий гидроокись (гидроксид калия), осч	ГОСТ 24363—80
Калий марганцовокислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
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
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Натрий сернокислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

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)	ГОСТ 25336—82
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронки делительные вместимостью 250 и 1 000 $см^3$	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	ТУ 9398-05-0576-9082—2003
Колбы конические (плоскодонные) вместимостью 100—150, 200—250 и 500 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100, 150 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Компрессор (СКБ «Хроматэк», Россия)	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Стаканы химические, вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Патроны для твердофазной экстракции С18 Sep Pak, Classik (Waters, США), масса сорбента 360 мг	
Патроны для твердофазной экстракции Sep Pak Silica, (Waters, США), объем сорбента 2 $см^3$	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок 30	
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Сосуды для гомогенизации тканей стеклянные с плунжером, вместимостью 15 $см^3$ типа BBI-8540802 (фирма «Sartorius AG», Германия)	
Стеклянные или полипропиленовые емкости вместимостью 100 $см^3$ с герметичной крышкой (для хранения биопроб)	

Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641-75)
Холодильник с морозильной камерой бытовой	
Хроматографическая колонка DB-5ms, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм	
Хроматографическая колонка капиллярная DB-1701, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм	
Шприцы медицинские с разъемом Льюера вместимостью 5 и 10 $см^3$	

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 электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—79, а также требования, изложенные в технической документации на газовом хроматограф.

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 не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 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 оператора

К выполнению измерений допускают специалиста, имеющего квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на газовом хроматографе, освоившего данную методику и подтвердившего экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

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 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, градуировочных растворов, растворов внесения, установление градуировочной характеристики, подготовка концентрирующих патронов Sep Pak Silica и C18 Sep Pak.

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. Гексан

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты, до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.3. Хлористый метилен и этилацетат

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %

Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в деионизованной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

Хлористый метилен (этилацетат) промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, 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 калия гидроксида с молярной концентрацией 2 моль/дм^3 (2 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 500 см^3, помещают (56 ± 0,1) г гидроксида калия, растворяют в 250—300 см^3 деионизованной воды, доводят водой до метки, перемешивают.

7.3. Приготовление раствора марганцовокислого калия с массовой долей 0,1 %

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают (0,5 ± 0,01) г марганцовокислого калия, доводят водой до метки, перемешивают. Раствор хранят в темном месте.

7.4. Приготовление гексана, насыщенного ацетонитрилом

В коническую колбу вместимостью 500 см^3 с притертой пробкой помещают 250 см^3 гексана, вносят (10 ± 1) см^3 ацетонитрила, перемешивают в течение 5 мин. Хранят в темном месте.

7.5. Приготовление смесей гексан–этилацетат для очистки экстракта на патроне Sep Pak Silica

7.5.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 7 : 3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 70 см^3 гексана и 30 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.5.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 9 : 1). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 90 см^3 гексана и 10 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.5.3. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 80 см^3 гексана и 20 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.6. Приготовление смеси ацетонитрил–вода (объемное соотношение 3 : 7) для очистки экстракта на патроне С18 Sep Pak

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 30 см^3 ацетонитрила и 70 см^3 деионизованной воды, перемешивают.

7.7. Подготовка концентрирующего патрона Sep Pak Silica

Патрон устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума.

Концентрирующий патрон промывают с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, последовательно 3 см^3 метанола, 5 см^3 смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему), 5 см^3 гексана со скоростью прохождения растворителя через патрон 1—2 капли в секунду. Патрон готовят непосредственно перед использованием. Нельзя допускать высыхания верхнего слоя сорбента.

7.8. Подготовка концентрирующего патрона C18 Sep Pak

Концентрирующий патрон промывают с помощью медицинского шприца или разряжения, создаваемого водоструйным насосом, 5 $см^3$ метанола со скоростью прохождения растворителя через патрон 1—2 капли в секунду, затем 10 $см^3$ деионизованной воды.

Патрон готовят непосредственно перед использованием.

7.9. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.9.1. Исходный раствор метрибузина для градуировки (массовая концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,01 г метрибузина, растворяют в 50—70 $см^3$ этилацетата, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 2-х месяцев.

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

7.9.2. Растворы № 1 метрибузина для градуировки (массовая концентрация 10 мкг/$см^3$).

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора метрибузина с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.9.1), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике не более месяца.

7.9.3. Рабочие растворы № 2—5 метрибузина для градуировки и внесения (массовая 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 $см^3$ раствора № 1 метрибузина с концентрацией 10 мкг/$см^3$ (п. 7.9.2), доводят до метки этилацетатом, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией метрибузина 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мкг/$см^3$, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике не более месяца.

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

7.10. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площадей пиков (мВ · с) от концентрации метрибузина в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки № 2—5 (п. 7.9.3).

В испаритель хроматографа вводят 1 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.1.

или 9.3.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площади пиков (в мВ · с) метрибузина.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

Градуировочную характеристику проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значение площадей отличается более, чем на 11 % от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

8. Отбор и хранение проб

Пробы органов, тканей, кала и мочи отбирают в лабораторных условиях, герметично упаковывают в полипропиленовые или стеклянные емкости с притертыми крышками, замораживают и хранят в морозильной камере при температуре ниже –18 °С.

Непосредственно перед анализом образцы органов, тканей, а также кала тщательно измельчают с использованием гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Печень, почки, семенники, головной мозг, кал

Образец печени, почек, семенников и кала массой 5 г, головного мозга массой 2 г гомогенизируют в сосуде для гомогенизации с порцией ацетонитрила объемом 5—7 $см^3$. Гомогенизированный образец с порциями ацетонитрила по 10—15 $см^3$ переносят в коническую колбу вместимостью 100—150 $см^3$ (общий объем ацетонитрила с учетом растворителя, взятого для гомогенизации и обмыва сосуда для гомогенизации – 70 $см^3$), дополнительно тщательно перемешивают и помещают на 1 ч в холодильник (4—6 °С). Затем надосадочную жидкость фильтруют через бумажный фильтр, помещенный в конусную воронку, в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$. Осадок на фильтре промывают 30 $см^3$ ацетонитрила, предварительно ополоснув растворителем колбу, в которой находилась проба, объединяя фильтрат с основной порцией в делительной воронке. Затем в делительную воронку вносят 20 $см^3$ гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, перенося в коническую колбу на 100—150 $см^3$, верхнюю гексановую промывку отбрасывают. Ацетонитрильный раствор возвращают в делительную воронку и операцию промывки повторяют новой порций гексана, насыщенного ацетонитрилом, объемом 20 $см^3$. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный раствор переносят в круглодон-

ную колбу для упаривания вместимостью 250 см^3, вносят в нее 10 см^3 деионизованной воды, упаривают на ротационном вакуумном растворителе при температуре 35—40 °С до объема около 20 см^3, внимательно следя за процессом, не допуская переброса жидкости при вспенивании, и очищают по п. 9.2.

9.1.2. Моча

Пробу мочи объемом 20 см^3 помещают в коническую колбу вместимостью 100—150 см^3, вносят 50 см^3 ацетонитрила, перемешивают и помещают на 1 час в холодильник (4—6 °С). Затем раствор осторожно переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, после полного расслаивания нижний водный слой отделяют и отбрасывают. В делительную воронку вносят 10 см^3 гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, перенося в коническую колбу на 100—150 см^3, верхнюю гексановую промывку отбрасывают. Ацетонитрильный раствор возвращают в делительную воронку и операцию промывки повторяют новой порций гексана, насыщенного ацетонитрлом, объемом 10 см^3. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный раствор переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 см^3, вносят в нее 10 см^3 деионизованной воды, упаривают на ротационном вакуумном растворителе при температуре 35—40 °С до объема около 20 см^3 и очищают по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта.

9.2.1. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и окислением

Остаток в колбе, полученный по п. 9.1.1 или 9.1.2, с помощью 80 см^3 деионизованной воды переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, колбу дополнительно обмывают 20 см^3 воды, которую также переносят в воронку. Вносят в воронку 10 см^3 насыщенного раствора натрия хлористого, перемешивают и помещают на 1 час в холодильник или на 15 мин в морозильную камеру. Затем в воронку вносят 2 см^3 2 М раствора калия гидроксида и 50 см^3 дихлорметана, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой переносят в новую делительную воронку вместимостью 250 см^3. Экстракцию метрибузина повторяют еще дважды порциями дихлорметана объемом 20 см^3. Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы дихлорметана в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества.

В делительную воронку, содержащую объединенные дихлорметановые экстракты, вносят 10 $см^3$ 2 М раствора калия гидроксида и 5 $см^3$ 0,1 %-го раствора марганцовокислого калия (при анализе печени объем раствора марганцовокислого калия увеличивают до 6 $см^3$), интенсивно встряхивают в течение 3-х мин. Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы дихлорметана в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества. После полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 150 $см^3$, фильтруя через слой (около 1 см) безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусную воронку диаметром 56 мм. Сульфат натрия на фильтре промывают дополнительной порцией дихлорметана объемом 10 $см^3$. Верхний водный слой отбрасывают.

Объединенные экстракт и промывку, пропущенные через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном растворителе при температуре бани не выше 35 °С. Дальнейшую очистку на концентрирующем патроне Sep Pak Silica проводят по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Sep Pak Silica

Остаток в колбе, полученный после упаривания по п. 9.2.1 растворяют в 5 $см^3$ гексана, помещая на 30—40 с на ультразвуковую баню, и вносят с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, на концентрирующий патрон Sep Pak Silica (подготовленный по п. 7.7) со скоростью пропускания раствора 1—2 капли в секунду. Колбу ополаскивают 5 $см^3$ гексана, который также наносят на патрон. После нанесения пробы патрон промывают 3 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему), элюат отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 10 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), собирая элюат в круглодонную колбу, упаривают при температуре не выше 35 °С досуха. Остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, вносят 9 $см^3$ деионизованной воды, помещают на ультразвуковую баню на 45—60 с. Дальнейшую очистку на концентрирующем патроне С18 Sep Pak проводят по п. 9.2.3.

9.2.3. Очистка экстракта на концентрирующем патроне С18 Sep Pak

Раствор в колбе, полученный по п. 9.2.2, вносят с помощью медицинского шприца или разряжения, создаваемого водоструйным насосом, на концентрирующий патрон С18 Sep Pak, подготовленный по п. 7.8, со скоростью пропускания раствора 2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Патрон дополнительно промывают (скорость 2 капли в секунду) 10 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода в соотношении 3 : 7 (по объему), также собирая элюат в круглодонную

колбу. Объединенный элюат упаривают досуха при температуре не выше 40 °С, для полного удаления следов влаги вносят в колбу порцию ацетонитрила (5—7 $см^3$) и вновь упаривают.

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ этилацетата и анализируют содержание метрибузина по пп. 9.3.1 или 9.3.2.

9.3. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

9.3.1. Хроматограф газовый, снабженный термоионным детектором.

Колонка капиллярная DB-5ms, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм

Температура детектора: 350 °С

испарителя: 300 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 100 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 220 °С, выдержка 5 мин, нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 270 °С (выдержка 2 мин).

Скорость воздуха 200 $см^3$/мин; водорода 10,5 $см^3$/мин; газа 3 (азот) 30 $см^3$/мин

Скорость газа 1 (азот): 35,544 см/с, давление 120 кПа, поток 1,393 $см^3$/мин, деление потока 1 : 5

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$

Ориентировочное время удерживания метрибузина: ~12,5 мин

9.3.2. Газовый хроматограф, снабженный электронозахватным детектором.

Колонка капиллярная DB-1701, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм.

Температура детектора: 300 °С

испарителя: 280 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 80 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 230 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 270 °С (выдержка 1 мин).

Скорость газа 1 (азот): 35,971 $см^3$/с, давление 70 кПа, поток 2,015 $см^3$/мин.

Деление потока 1 : 2,9.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$

Ориентировочное время выхода метрибузина: ~16,9 мин.

Линейный диапазон детектирования: 0,01—0,1 нг

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

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с массовой концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют этилацетатом, не более чем в 50 раз. При расчете содержания метрибузина учитывают разбавление.

10. Обработка результатов анализа

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

$$\tilde{O} = \frac{\tilde{N} \cdot V}{m}, \text{ где}$$

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

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

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

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2 \cdot |\tilde{O}_1 - \tilde{O}_2| \cdot 100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \le r, \text{ где} \qquad (1)$$

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

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:

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

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

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

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \tilde{O}}{100}, \text{ где}$$

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

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

«*содержание метрибузина в пробе печени, почек, семенников, кала менее 0,004 мг/кг; головного мозга – менее 0,01 мг/кг; мочи – менее 0,001 мг/дм*^{3}»*

** – 0,004 мг/кг – предел обнаружения в печени, почках, семенниках, кале; 0,01 мг/кг – головном мозге; 0,001 мг/дм*^{3} *– моче.*

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:

$$C_д \geq \Delta_{ë,\tilde{O}} + \Delta_{ë,\tilde{O}'} \text{ где}$$

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

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

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

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \tilde{O}}{100}, \text{ где}$$

δ ¬ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном определяемых концентраций, табл. 1), %.

Контрольный параметр процедуры ($K_к$) рассчитывают по формуле:

$$K_к = \overline{\tilde{O}'} - \overline{\tilde{O}} - C_д, \text{ где}$$

$\overline{\tilde{O}'}$, $\overline{\tilde{O}}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг (дм^3);

Норматив контроля K рассчитывают по формуле

$$K = \sqrt{\Delta^2_{\tilde{e},\overline{\tilde{O}'}} + \Delta^2_{\tilde{e},\overline{\tilde{O}}}}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

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

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

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг (дм^3);

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., Рогачева С. К. (ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора).

gost.e-ecolog.ru