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 -

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ МЕТАМИТРОНА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, БОТВЕ И КОРНЕПЛОДАХ САХАРНОЙ, СТОЛОВОЙ И КОРМОВОЙ СВЕКЛЫ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОЙ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

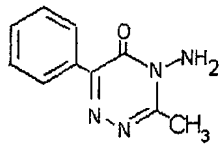
МУК 4.1.2081-06

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации метамитрона в воде в диапазоне 0,01-0,1 мг/дм^3, в почве - 0,05-0,5 мг/кг, в ботве – 0,03-0,3 мг/кг и в корнеплодах сахарной, столовой и кормовой свеклы в диапазоне 0,015-0,15 мг/кг.

Метамитрон – действующее вещество гербицида Пилот, ВСК (700 г/л), фирма производитель ЗАО фирма «Август» (Российская Федерация).

4-амино-4,5-дигидро-3-метил-6-фенил-1,2,4-триазин-5-он (ИЮПАК)

4-амино-3-метил-6-фенил-1,2,4-триазин-5(4Н)-он (С.А.)



$C_{10}H_{10}N_4O$

Мол. масса: 202,2

Желтоватое кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления: 166,9°С. Давление паров при 25°С: 2 х 10^{-3} мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 0,83. Растворимость (г/дм^3) при 20°С: дихлорметан – 30-50, хлороформ - 29, метанол – 23, изопропанол – 5.7, толуол – 2.8, гексан – менее 0.1, вода – 1,7.

Вещество высокостабильно в кислой среде, но разлагается сильными щелочами (pH>10): DT_{50} = 410 дней (pH 4), 740 час. (pH 7), 230 час. (pH9).

Метамитрон быстро разрушается в воде и на поверхности почвы.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1200, для мышей – 650 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - более 4000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - более 330 мг/м^3 воздуха. LC_{50} для рыб 326-443 мг/дм^3 (96 час.). Гербицид нетоксичен для птиц, пчел и диких животных.

Гигиенические регламенты применения метамитрона: ОДК в почве – 0,4 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,3 мг/дм^3; МДУ в свекле сахарной и столовой – 0,03 мг/кг.

Область применения препарата

Метамитрон – системный гербицид, поглощается корнями и в меньшей степени листьями растений и транспортируется в акропетальном направлении. Применяется для борьбы с однолетними злаковыми и широколистными сорняками в посевах сахарной, столовой и кормовой свеклы путем допосевного или довсходового внесения или опрыскивания вегетирующих растений.

Зарегистрирован в России под торговым названием Пилот, ВСК (700 г/л) в качестве средства борьбы с сорняками на посевах сахарной, столовой и кормовой свеклы с нормой расхода препарата не более 2 кг/га при одно- или двукратной обработке (опрыскивание посевов по всходам сорняков с последующей обработкой через 8-14 дней при повторном отрастании сорняков).

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

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций мг/дм^3, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P=0,95	Стандартное отклонение повторяемости σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Вода	более 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,1	8,7	13,5
Почва	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	4,0	11,2	17,3
	более 0,1 до 0,5	25	2,5	6,9	10,7
Ботва столовой свеклы	от 0,03 до 0,1 вкл.	50	3,6	10,1	15,6
	более 0,1 до 0,3	25	2,8	7,8	12,1
Корнеплоды столовой свеклы	от 0,015 до 0,1 вкл.	50	3,0	8,4	13,4
	более 0,1 до 0,15	25	2,4	6,7	10,5
Корнеплоды сахарной свеклы	от 0,015 до 0,1 вкл.	50	3,2	9,0	14,0
	более 0,1 до 0,15	25	1,9	5,3	8,3
Корнеплоды кормовой свеклы	от 0,015 до 0,1 вкл.	50	2,9	8,1	12,6
	более 0,1 до 0,15	25	2,2	6,2	10,0

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

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/дм^3, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/дм^3, мг/кг	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ± %
1	2	3	4	5	6
Вода	0,01	0,01 – 0,1	90,1	2,8	±2,6

1	2	3	4	5	6
Почва	0,05	0,05-0,5	85,8	4,9	±4,6
Ботва столовой свеклы	0,03	0,03-0,3	82,7	3,7	±3,8
Корнеплоды столовой свеклы	0,015	0,015-0,15	84,5	4,2	±4,0
Корнеплоды сахарной свеклы	0,015	0,015-0,15	87,7	3,4	±3,2
Корнеплоды кормовой свеклы	0,015	0,015-0,15	83,7	3,7	±3,8

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронозахватным детектором (ЭЗД). Контроль метамитрона в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из воды хлористым метиленом, из почвы водным ацетоном, из ботвы и корнеплодов свеклы ацетоном, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ЭЗД (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 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$	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

Метамитрон, аналитический стандарт фирмы Байер (Германия) с содержанием д.в. 99,5 %	
Ацетон, чда	ГОСТ 2603-79
Ацетонитрил, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 7602
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300

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
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена	ГОСТ 5614
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737
Колонка кварцевая капиллярная ZB-50, длиной 30 м, внутренним	

диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза OV-17, фирма Phenomenex (США) или аналогичная	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8-10 мм	ГОСТ 9737
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Патроны концентрирующие Диапак С8 (0,6 г), ЗАО БиоХимМак СТ (Москва, Воробьевы горы, МГУ)	ТУ 4215-002-05451931-94
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-11-917
Силикагель для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) I степени активности	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей	
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678-77
Шприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1 - 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, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

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 этилацетата

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

7.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

7.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель I степени активности 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 130^0С в течение 3 часов.

7.2. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8 для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом

кране) суспензию 3 г силикагеля I степени активности в 15 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 см^3 смеси гексан-ацетон (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 10 см^3 метанола, 5 см^3 ацетонитрила и 5 см^3 смеси ацетонитрил-вода (2:8, по объему) со скоростью 5 см^3/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения метамитрона на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора № 1 метамитрона с концентрацией 10 мкг/см^3 в этилацетате (п. 7.5.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 3 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 30 см^3 смеси гексан-ацетон (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку с силикагелем промывают 40 см^3 смеси гексан-ацетон (7:3, по объему). Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание метамитрона по п.9.5.

7.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку ZB-50 (типа OV-17) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280^{0}С и скорости газа-носителя 2 см^3/мин в течение 8-10 часов.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходный раствор метамитрона для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,010 г метамитрона, растворяют в 40-50 см^3 этилацетата, доводят этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение 3-х месяцев.

7.5.2. Раствор метамитрона №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3).

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора метамитрона с концентрацией 100 мкг/см^3 (п.7.6.1.), разбавляют этилацетатом до метки.

Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб воды, почвы, ботвы и корнеплодов с внесением при оценке полноты извлечения метамитрона из исследуемых образцов используют ацетоновый раствор метамитрона с концентрацией 10 мкг/см^3.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор метамитрона хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение месяца.

7.5.3. Рабочие растворы №№ 2-5 метамитрона для градуировки (концентрация 0,1-1,0 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 градуировочного раствора № 1 метамитрона с концентрацией 10 мкг/см^3 (п.7.5.2), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией метамитрона 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мВ) от концентрации метамитрона в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п.7.5.3) *и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не* менее 3-х параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТами Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», 1743.01-83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», 26950-89 «Почвы. Отбор проб», 17421-82 «Свекла сахарная для промышленной переработки. Требования при заготовках»,

Пробы воды анализируют в день отбора или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре –18^{0}С не более 4-х недель.

Образцы почвы подсушивают на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре 4-6^{0}С не более 4-х недель. Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре –18^{0}С.

Пробы ботвы и корнеплодов свеклы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более одного дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре –18^{0}С до анализа.

Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, образцы почвы просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм, а ботву и корнеплоды измельчают ножом или на терке.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция метамитрона

9.1.1. *Вода.* Образец отфильтрованной воды объемом 100 см^3 помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3. В воронку вносят 50 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 25 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С. Остаток в колбе растворяют в 10 см^3 этилацетата и анализируют на содержание метамитрона по п.9.5.

9.1.2. *Почва.* Образец воздушно-сухой почвы массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 деионизованной воды, перемешивают и оставляют стоять в течение 15 мин. К суспензии приливают 50 см^3 ацетона и колбу помещают на встряхиватель на 1 час. Раствор (с осадком почвы) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и ½ его часть (эквивалентную 10 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п.9.2.

9.1.3. Ботва и корнеплоды. Образец измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 ацетона и гомогенизируют 3 мин. при 10000 об/мин. Раствор (с осадком) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают ¼

объема экстракта ботвы (эквивалентна 5 г образца) и ½ объема экстракта корнеплодов (эквивалентна 10 г образца) и переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракт, полученный по пп. 9.1.2. и 9.1.3. и помещенный в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (5-10 $см^3$) при температуре не выше 40^{0}С. К водному остатку прибавляют 10 $см^3$ деионизованной воды, 15 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. В воронку вносят 40 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 30 $см^3$ хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8 по пп.9.3. и 9.4.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2., растворяют в 0,6 $см^3$ ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,4 $см^3$ гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 3 $см^3$ смеси гексан-ацетон (8:2, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 30 $см^3$ смеси гексан-ацетон (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Метамитрон элюируют с колонки 30 $см^3$ смеси гексан-ацетон (7:3, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30°С. Сухой остаток экстракта почвенного образца и корнеплодов растворяют соответственно в 5 и 1,5 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание метамитрона по п. 9.5. Экстракт ботвы дополнительно *очищают с помощью концентрирующего патрона Диапак С8.*

9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак С8

Сухой остаток экстракта ботвы, полученный по п.9.3., растворяют в 0,4 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 1,6 $см^3$

деионизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на концентрирующий патрон, подготовленный по п.7.2., элюат отбрасывают. Метамитрон элюируют с патрона 6 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (3:7, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 25 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^0С. Остаток в колбе растворяют в 1,5 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание метамитрона по п.9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с электронозахватным детектором с пределом детектирования не выше $2,82x10^{-14}$ г/с.

Колонка капиллярная кварцевая ZB-50, длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза OV-17, фирма Phenomenex (США)

Температура термостата испарителя – 290^0С, детектора – 300^0С, термостата колонки (программа: от 200^0С со скоростью 10^0/мин до 270^0С (10 мин.); со скоростью 10^0/мин до 280^0С (2 мин.)

Расход газов: газа-носителя (азот) – 3,0 $см^3$/мин; поддувочного газа через детектор – 25 $см^3$/мин

Деление потока: 1:2

Время удерживания метамитрона: 12 мин.15 сек

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,1 – 2,0 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят 3 раза и вычисляют среднюю высоту хроматографического пика метамитрона.

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

10. Обработка результатов анализа

Содержание метамитрона рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_i \times A \times V}{H_o \times m}$$, где

X - содержание метамитрона в пробе, мг/$дм^3$; мг/кг;

H_i - высота пика образца, мВ;

H_o – высота пика стандарта, мВ;

A - концентрация стандартного раствора метамитрона, мкг/см^3;

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

m - масса анализируемой части образца (см^3, г) / для воды – 100 см^3, для ботвы – 5 г, для почвы и корнеплодов - 10 г/.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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:

$(\overline{X} \pm \Delta)$ мг/кг (дм^3) при вероятности P= 0.95,

где $\overline{X}$ - среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг (дм^3);

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

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

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 0.01 мг/дм^3 для воды, менее 0,05 мг/кг для почвы**, менее 0,03 мг/кг для ботвы***, менее 0,015 мг/кг для корнеплодов****.*

** - 0.01 мг/ дм^3 - предел обнаружения для воды,*

*** - 0,05 мг/кг - предел обнаружения для почвы,*

**** - 0,03 мг/кг - предел обнаружения для ботвы,*

***** - 0,015 мг/кг - предел обнаружения для корнеплодов.*

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 с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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 (дм^3), при этом:

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$,

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

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

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 (дм^3);

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

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

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)

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

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

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

14. Разработчики

Дубовая Л.В.; Микитюк О.Д., к.б.н.; Назарова Т.А., к.б.н.; Макеев А.М., к.б.н.

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

Подпись руки Дубовой Л.В., Микитюка О.Д., Назаровой Т.А. и Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ (Банюлис Г.Г.)

gost.e-ecolog.ru