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 2006г.

Дата введения: 1 сентября 2006

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ.

Методические указания по определению остаточных количеств Трибенурон-метила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

МУК 4.1.2682–06

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в семенах и масле подсолнечника Трибенурон-метила.

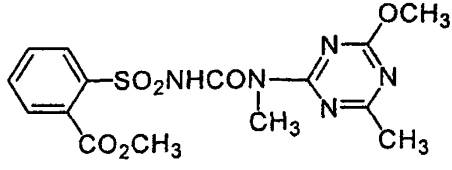
Производитель: Дюпон де Немур

Торговое наименование препарата: Гранстар.

Название действующего вещества по номенклатуре ИСО: Трибенурон-метил.

Название действующего вещества по ИЮПАК: метил 2-[4-метокси-6-метил-1,3,5-триазин-2-ил(метил)карбамоилсульфамоил]бензоат

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{17}N_5O_6S$

Молекулярная масса: 395,4

Химически чистый Трибенурон-метил представляет собой белый порошок с легким горьковатым запахом.

Температура плавления: 142° С

Давление паров 5,2 х 10^{-5} мПа (при 25°С).

Растворимость в воде 0,05 г/л (pH 5), 2,04 г/л (pH 7), 18,3 г/л (pH 9) (при 20°С).

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20°С): ацетон –3,91·10^{-4}, ацетонитрил – 4,64·10^{4}, этилацетат – 1,63·10^{4}, метанол – 2,59·10^{3}; н-гептан – 20,8 мг/л (при 20°С).

Трибенурон-метил – слабая кислота с pKa 4,7

Стабилен при pH 9, гидролизуется при pH 5 с DT_{50} менее 1 дня, при pH 7 - DT_{50} –15,8 дней при температуре 25°С. Не наблюдается значительного фотолитического разложения в диапазоне pH 5-9 при температуре 25°.

Трибенурон-метил – гербицид листового системного действия, подавляющий развитие двудольных сорняков в посевах злаковых культур, по механизму действия относится к ингибиторам ацетолактатсинтетазы, что приводит к прекращению деления клеток. Проникает в растения через листья, при попадании на почву активности не проявляет.

Краткая токсикологическая характеристика: Трибенурон-метил относится к малоопасным веществам по: острой пероральной токсичности (LD_{50} для крыс > 5000 мг/кг) и острой дермальной токсичности– (LD_{50} для кроликов > 5000 мг/кг), но к умеренно опасным по острой ингаляционной токсичности (LC_{50} для крыс)(4 часа) >5000 мг/$м^3$ воздуха. Не вызывает покраснения глаз у кроликов; слабо сенсибилизирует кожу гвинейских свиней. Не обладает генотоксичностью.

В России для Трибенурон-метила установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД - 0,01 мг/кг/сутки;

МДУ в зерне хлебных злаков – не допускается.

Рекомендуемый МДУ в семенах и масле подсолнечника -0,02 мг/кг.

Зарегистрирован в России под торговым названием Гранстар, СТС. Рекомендован для борьбы с однолетними двудольными, бодяком полевым и однолетними злаковыми сорняками в посевах зерновых, включая пшеницу, ячмень и овес с нормой расхода 10 – 25 г/га. Препарат испытывается в посевах трансгенных сортов подсолнечника, устойчивых к Трибенурон-метилу.

1. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.

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/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P=0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Семена подсолнечника	0,005 – 0,01	100	1,6	5	6
	0,01 – 0,1	50	2,8	8	10
Масло подсолнечника	0,005 – 0,01	100	2,0	6	7
	0,01 – 0,1	50	2,5	7	9

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций (n = 20) приведены в Таблице 2.

Таблица 2.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата.

Анализируемый объект	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, ±, %
Семена подсолнечника	0,01	0,01 – 0,1	74,9	2,8	0,95
Масло подсолнечника	0,01	0,01 – 0,1	80,2	2,6	0,97

2. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ.

Метод основан на определении Трибенурон-метила методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на концентрирующих патронах на основе силикагеля (Диапак С и Диапак С 16). При недостаточной чистоте экстракта его очищают дополнительно на патроне Диапак Диол.

Идентификация вещества проводится по времени удерживания, а количественное определение - методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании подсолнечника.

3. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, РЕАКТИВЫ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА И МАТЕРИАЛЫ.

3.1. Средства измерений.

Весы аналитические ВЛА-200 - ГОСТ 34104-80 Е

Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г - ГОСТ 19491-74.

Колбы мерные на 25, 50 и 100 $см^3$ - ГОСТ 1770-74.

Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50-100 $мм^3$.

Пипетки мерные на 1,0; 2,0; и 5,0 $см^3$ - ГОСТ 20292-74

Потенциометр - pH-метр –150М - ГОСТ 2261

Хроматограф жидкостной Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу; № государственной регистрации 15311-02.

Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50 и 100 $см^3$ - ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы.

Трибенурон-метил, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 97,7% (фирма Дюпон, США)

Ацетон, осч. - ТУ 2633-00-4-11291058-94

Ацетонитрил осч. УФ-205 нм - ТУ 6-09-2167-84.

Вода бидистиллированная, деионизированная - ГОСТ 7602-72.

Гексан, х.ч. для спектроскопии - ТУ 6-09-06-657-84

Калий фосфорнокислый двузамещенный (K_2HPO_4) - ГОСТ 2498-75

Калий марганцовокислый, ч.д.а. - ГОСТ 20490-75.

Кальций хлористый, х.ч. - ГОСТ 4161-76.

Кислота ортофосфорная х.ч. - ГОСТ 6552-80

Кислота серная, концентрированная, ч. - ГОСТ 4204-77.

Кислота уксусная, ледяная - ГОСТ 61-75

Метилен хлористый, х.ч - ТУ 6-09-2662-77

Натрия гидрокарбонат, х.ч. - ГОСТ 2156-76

Натрий сернокислый, безводный, х.ч. - ГОСТ 4166-76.

Натрий хлористый, х.ч. - ГОСТ 4233-77.

Концентрирующие патроны Диапак С (0,6 г) - ТУ 4215-002-05451931-94

Концентрирующие патроны Диапак С 16 (0,6 г) - ТУ 4215-002-05451931-94

Концентрирующие патроны Диапак Диол (0,6 г) - ТУ 4215-002-05451931-94.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы.

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами Диапак – С, Диапак Диол и Диапак – С 16 фирмы БиоХимМак

Ванна ультразвуковая UM-4, фирма Unitra.

Воронки делительные на 250 и 500 мл - ГОСТ 25336-82Е.

Воронки конические, стеклянные диаметром 50-60 мм - ГОСТ 25336-082Е

Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма Уотерс.

Колбы конические, плоскодонные на 500 и 1000 $см^3$ - ГОСТ 9737-70

Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 50, 100 и 250 $см^3$- ГОСТ 10394-75

Насос диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport.

Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 18 , длиной 20 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма Уотерс

Испаритель ротационный Rotavapor R110 Buchi с водяной баней B-480;

Стаканы стеклянные на 100-500 $см^3$ - ГОСТ 25366-80Е.

Установка для перегонки растворителей

Фильтры бумажные, "красная лента", ТУ-6-09-1678-86.

Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс или аналогичные.

Флаконы полипропиленовые объемом 20 $см^3$; 250 $см^3$.

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ.

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

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

5. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ.

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном 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 $(20\pm5)^0$с и относительной влажности не более 80%.

-выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. ПОДГОТОВКА К ОПРЕДЕЛЕНИЮ.

7.1. Подготовка органических растворителей.

7.1.1.Очистка ацетона.

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия (А.Гордон, Р.Форд Спутник химика, Москва, 1976 г., с.438-439)

7.1.2. Очистка ацетонитрила.

Ацетонитрил перегоняют.

7.1.3. Очистка гексана.

Гексан встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают бледно-розовым раствором перманганата калия до тех пор, пока раствор не перестанет обесцвечиваться, затем промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (А.Гордон, Р.Форд Спутник химика, Москва, 1976 г., с.441).

7.1.4. Очистка хлористого метилена.

Хлористый метилен встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают водным раствором карбоната натрия, водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют над оксидом(V) фосфора (А.Гордон, Р.Форд Спутник химика, Москва, 1976 г., с.440)

7.1.5. Очистка бидистиллированной воды.

Бидистиллят кипятят в течение 6 часов с марганцовокислым калием, добавленным из расчета 1 г/л, и затем перегоняют.

7.2.Приготовление растворов для проведения анализа.

7.2.1. Приготовление буфера 0,05 М калия фосфорнокислого двузамещенного, *pH 9.*

В мерную колбу объемом 1000 $см^3$ помещают 800 $см^3$ дистиллированной воды и растворяют в ней 8,75 г *М* калия фосфорнокислого двузамещенного и 100 г натрия хлористого, доводят pH (по pH-метру) до 9, используя 1М раствор едкого натра, после чего доводят раствор до метки дистиллированной водой

7.2.2. Приготовление 10% раствора ортофосфорной кислоты.

В мерную колбу объемом 100 $см^3$ помещают 50 $см^3$дистиллированной воды и 10 г концентрированной (85%) ортофосфорной кислоты, перемешивают и доводят до метки дистиллированной водой.

7.2.3. Приготовление 0,1% ледяной уксусной кислоты в ацетоне.

В мерную колбу объемом 100 $см^3$ помещают 50 $см^3$ ацетона (свежеперегнанного над перманганатом калия) и 0,1 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, перемешивают, доводят до метки ацетоном, еще раз перемешивают и используют для анализа.

7.3. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии.

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

7.3.1. Приготовление 0,05% раствора уксусной кислоты.

В мерную колбу объемом 1,0 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ очищенной воды и 0,5 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, перемешивают, доводят до метки очищенной водой и еще раз перемешивают.

7.3.2.Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ.

В плоскодонную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ ацетонитрила и 500 $см^3$ раствора 0,05% уксусной кислоты в очищенной воде. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 $см^3$/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту.

7.4. Приготовление градуировочных растворов.

7.4.1.Стандартный раствор с концентрацией Трибенурон-метила 1,0 мг/$см^3$.

Взвешивают 100 мг Трибенурон-метила в мерной колбе объемом 100 $см^3$. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор можно хранить в морозильной камере в течение шести месяцев.

7.4.2.Стандартный раствор с концентрацией Трибенурон-метила 10,0 мкг/$см^3$.

Из стандартного раствора Трибенурон-метила с концентрацией 1,0 мг/$см^3$ отбирают мерной пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$ и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор можно хранить в холодильнике в течение одного месяца.

7.4.3. Стандартные растворы Трибенурон-метила с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/$см^3$ для построения калибровочной кривой.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/$см^3$, и используют эти растворы для хроматографического исследования. Растворы готовят в стеклянных мерных колбах и затем переносят в полипропиленовые герметичные флаконы объемом 20 $см^3$. **Растворы в полипропиленовых герметичных флаконах можно хранить в холодильнике в течение 5 дней. В стеклянной таре Трибенурон-метил разрушается в течение рабочего дня.**

7.4.4. Стандартные растворы Трибенурон-метила с концентрацией 2,0; 1,0; 0,5 и 0,2 мкг/см^3 для внесения в образцы семян и масла подсолнечника.

Для внесения в исследуемые образцы семян и масла подсолнечника готовят растворы Трибенурон-метила в ацетоне. Из раствора Трибенурон-метила в ацетонитриле с концентрацией 10 мкг/см^3 методом последовательного разведения ацетоном готовят растворы, содержащие 2,0;1,0; 0.4; 0,2 мкг/см^3 Трибенурон-метила. Растворы готовят в стеклянных мерных колбах и затем переносят в полипропиленовые герметичные флаконы объемом 20 см^3. Растворы для внесения в образцы готовят непосредственно перед проведением анализа и не хранят.

7.5. Установление градуировочной характеристики.

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Трибенурон-метила в растворе устанавливают методом абсолютной калибровки по стандартным растворам с концентрациями 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3.

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и хроматографируют в условиях п. 9.2. Проводят не менее 3 параллельных измерений и находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. По полученным данным строят градуировочный график зависимости площади хроматографического пика в мВ от концентрации Трибенурон-метила в растворе в мкг/см^3.

7.6. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С, Диапак С 16 и Диапак Диол для очистки экстрактов.

7.6.1. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-С для очистки экстракта.

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

Патрон Диапак-С устанавливают на аллонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают последовательно 5 см^3 ацетона и 5 см^3 смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!

7.6.1.1. Проверка хроматографического поведения Трибенурон-метила на концентрирующем патроне Диапак-С.

Из стандартного раствора Трибенурон-метила в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/см^{3}отбирают 1 мл, помещают в круглодонную колбу объемом 100 см^3 и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30°С.

Сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор 1 добавляют 9 см^3 гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в чистый концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют.

Концентратор вновь тщательно обмывают 10 см^3 смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 и двумя порциями по 5 см^3 смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 и смывы последовательно также вносят на патрон, собирая каждую фракцию в чистые концентраторы и хроматографируя их. Затем концентратор обмывают еще двумя порциями по 10 см^3 0,1% ледяной уксусной кислоты в ацетоне. Элюат после прохождения каждой порции собирают в чистые концентраторы, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Трибенурон-метил, и объединяют их.

7.6.2. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-С16 для очистки экстракта.

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см^3/мин. При работе на патронах Диапак-С16 используют очищенную воду.

Патрон Диапак-С16 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 см^3 смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:1. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!

7.6.2.1. Проверка хроматографического поведения Трибенурон-метила на концентрирующем патроне Диапак-С16.

Из стандартного раствора Трибенурон-метила в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/см^3, отбирают 1 см^3, помещают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30°С.

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ ацетонитрила и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 5 $см^3$ воды, Смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в чистый концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют.

Концентратор вновь обмывают двумя порциями по 5 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:1 и каждую порцию раздельно вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции собирают в чистые концентраторы, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Трибенурон-метил, и объединяют их.

7.6.3. Подготовка концентрирующего патрона Диапак Диол для очистки экстракта.

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

Патрон Диапак-С устанавливают на аллонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают последовательно 5 $см^3$ ацетона и 5 $см^3$ смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!

7.6.3.1. Проверка хроматографического поведения Трибенурон-метила на концентрирующем патроне Диапак Диол.

Из стандартного раствора Трибенурон-метила в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$ отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор 1 объемом 100 $см^3$ и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30°С.

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 $см^3$ гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в чистый концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют.

Концентратор тщательно обмывают 10 $см^3$ смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 и двумя порциями по 5 $см^3$ смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 и последовательно вносят на патрон. Затем концентратор обмывают двумя порциями по 10 $см^3$ гексан-ацетон в соотношении 4:1, порции также последовательно наносят на патрон. Элюаты после прохождения

каждой порции собирают в чистые концентраторы, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Трибенурон-метил, и объединяют их.

7.7. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии.

Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 с предколонкой Symmetry C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25°С и скорости потока подвижной фазы 1 $см^3$/мин 3-4 часа.

8. ОТБОР ПРОБ И ХРАНЕНИЕ ПРОБ.

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (N 2051-79 от 21.08.79). Семена подсолнечника, подсушенные до стандартной влажности, хранят в тканевых мешочках, в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре не более 6-ти месяцев. Влажные семена замораживают и хранят в морозильной камере при – 14°С до 1 года. Пробы масла подсолнечника хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0- 4° С в течение 10 суток.

9. ПРОВЕДЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЙ.

9.1.Семена подсолнечника.

9.1.1.Экстракция.

Образец измельченных семян подсолнечника массой 20 г помещают в полипропиленовый флакон объемом 250 $см^3$, прибавляют 75 $см^3$ гексана и помещают в ультразвуковую ванну, нагретую до температуры 30°С, на 10 минут. Затем флакон встряхивают 10 минут на механическом встряхивателе при комнатной температуре, центрифугируют 5 минут при скорости 4000 оборотов в минуту. Надосадочную жидкость фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$, и экстракт упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей.

К маслянистому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1., прибавляют 20 $см^3$ гексана, обмывают стенки концентратора и переносят раствор в делительную воронку

объемом 250 см^3. Концентратор обмывают еще двумя порциями гексана объемом 20 и 10 см^3 и объединяют все смывы в делительной воронке.

Трибенурон-метил экстрагируют из гексанового раствора тремя порциями ацетонитрила объемом по 20 см^3. После полного разделения слоев в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия толщиной 1 см. Гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

К маслянистому остатку в концентраторе прибавляют 20 см^3 гексана, обмывают стенки концентратора и переносят смыв в делительную воронку объемом 250 см^3. Концентратор обмывают еще двумя порциями гексана объемом 20 и 10 см^3 и объединяют все смывы в делительной воронке.

В ту же делительную воронку прибавляют 20 см^3 фосфатного буфера (pH 9) и интенсивно встряхивают 2 минуты. Оставляют делительную воронку на 5 минут при комнатной температуре для лучшего разделения слоев. Затем нижний водный слой с эмульсией помещают в химический стакан объемом 200 см^3. Из оставшегося гексанового слоя Трибенурон-метил экстрагируют еще двумя порциями фосфатного буфера (pH 9), встряхивая каждый раз делительную воронку 2 минуты, оставляя после встряхивания воронку на 5 минут при комнатной температуре и сливая водную фракцию в химический стакан. Гексан отбрасывают, нижние водные слои с эмульсией объединяют и переносят в чистую делительную воронку.

К водной фракции в делительную воронку прибавляют 100 см^3 гексана, встряхивают содержимое 2 минуты и оставляют на 10 минут при комнатной температуре. Затем нижний водный слой с небольшим количеством эмульсии собирают в химический стакан объемом 200 см^3, гексан отбрасывают. Водную фазу с эмульсией возвращают в делительную воронку. Туда же прибавляют 30 см^3 фосфатного буфера , 50 см^3 гексана, интенсивно встряхивают делительную воронку 2 минуты и оставляют при комнатной температуре до полного разделения слоев (приблизительно 10 минут). Нижний водный слой собирают в химический стакан объемом 200 см^3, верхний гексановый слой отбрасывают.

Водный экстракт возвращают в воронку и подкисляют 10% ортофосфорной кислотой до pH 4 (по pH-метру). Подкисление следует проводить как можно быстрее, чтобы минимизировать возможность гидролиза Трибенурон-метила в кислом водном растворе. Трибенурон-метил экстрагируют тремя порциями свежеперегнанного хлористого метилена объемом по 30 см^3, интенсивно встряхивая каждый раз делительную воронку по 2 минуты. После полного

разделения слоев нижний слой хлористого метилена объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, пропуская через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С и Диапак С 16.

9.1.3.1. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак-С.

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 $см^3$ гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Концентратор тщательно обмывают двумя порциями смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 по 10 и 5 $см^3$ и также вносят на патрон. Элюаты отбрасывают.

Трибенурон-метил элюируют с патрона 10 $см^3$ 0,1% уксусной кислоты в ацетоне, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

9.1.3.2. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак-С16.

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 5 $см^3$ воды, тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Концентратор обмывают 5 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:1 и вносят на патрон. Элюаты собирают в концентратор, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

9.1.3.3. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак Диол.

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 $см^3$ гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Концентратор тщательно обмывают 10 $см^3$ смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 и также вносят на патрон. Концентратор тщательно обмывают 10 $см^3$ смеси гексан-ацетон в соотношении 4:1 и также вносят на патрон. Все элюаты объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ацетонитрила и аликвоту 20 $мм^3$ вводят в хроматограф.

После хроматографирования каждой пробы следует промывать колонку не менее 40 минут.

9.2.Масло подсолнечника.

9.2.1.Экстракция.

Образец масла подсолнечника массой 20 г помещают в химический стакан объемом 100 мл, прибавляют 40 $см^3$ гексана, тщательно перемешивают и переносят в сухую делительную воронку объемом 250 $см^3$. Затем химический стакан обмывают тремя порциями гексана объемом по 20 $см^3$ и объединяют с раствором в делительной воронке. Трибенурон-метил экстрагируют из гексанового раствора тремя порциями ацетонитрила объемом по 30 $см^3$. После полного разделения слоев в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия толщиной 1 см. Гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей.

К маслянистому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.2.1., прибавляют 20 $см^3$ гексана, обмывают стенки концентратора и переносят смыв в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор обмывают еще двумя порциями гексана объемом 20 и 10 $см^3$ и объединяют все смывы в делительной воронке. В ту же делительную воронку прибавляют 20 $см^3$ фосфатного буфера (pH 9) и интенсивно встряхивают 2 минуты. Оставляют делительную воронку на 5 минут при комнатной температуре для лучшего разделения слоев. Затем нижний водный слой с эмульсией помещают в химический стакан объемом 200 $см^3$.

Из оставшегося гексанового слоя Трибенурон-метил экстрагируют еще двумя порциями фосфатного буфера (pH 9), встряхивая каждый раз делительную воронку 2 минуты и оставляя после встряхивания воронку на 5 минут при комнатной температуре. Гексан отбрасывают, нижние водные слои с эмульсией объединяют и переносят в делительную воронку.

Прибавляют в делительную воронку 100 $см^3$ гексана, встряхивают содержимое 2 минуты и оставляют на 10 минут при комнатной температуре. Затем нижний водный слой с небольшим количеством эмульсии собирают в химический стакан объемом 200 $см^3$, гексан отбрасывают. Водную фазу с эмульсией возвращают в делительную воронку. Туда же прибавляют 30 $см^3$ фосфатного буфера , 50 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают делительную воронку 2 минуты и оставляют при комнатной температуре до полного разделения слоев (приблизительно 10 минут). Нижний водный слой собирают в химический стакан объемом 200 $см^3$, верхний гексановый слой отбрасывают.

Водный экстракт подкисляют 10% ортофосфорной кислотой до pH 4 (по pH-метру) и возвращают в воронку. (Подкисление следует проводить как можно быстрее, чтобы минимизировать возможность гидролиза Трибенурон-метила в кислом водном растворе). Трибенурон-метил экстрагируют тремя порциями свежеперегнанного хлористого метилена объемом по 30 $см^3$, интенсивно встряхивая каждый раз делительную воронку по 2 минуты. После полного разделения слоев нижний слой хлористого метилена объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, пропуская через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

9.2.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С и Диапак С 16.

Сухой остаток, полученный по п.9.2.2. растворяют в 1 $см^3$ ацетона, добавляют 9 $см^3$ гексана и очищают на патронах Диапак С, Диапак С 16 и Диапак Диол, как указано в п.9.1.3.1, 9.1.3.2 и 9.1.3.3. После очистки элюат выпаривают досуха, растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют.

После хроматографирования каждых двух проб следует промывать колонку не менее 40 минут.

9.3. Условия хроматографирования.

Хроматограф "Waters" или другой с аналогичными характеристиками с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны.

Колонка стальная Symmetry Shield RP18, 4,6 мм х 25 см, зернением 5 мкм.

Предколонка стальная Symmetry RP18, 3,9 мм х 2 см, зернением 5 мкм

Температура колонки: 25°С.

Подвижная фаза: ацетонитрил- 0,05% уксусная кислота в соотношении 1:1

Длина волны 240 нм

Время удерживания Трибенурон-метила , 9,1- 9,6 мин.

Чувствительность 0,005 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2-20 нг.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ.

Содержание Трибенурон-метила рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{Sпр \cdot A \cdot V}{100 \cdot Sст \cdot m} \times P$$

где X - содержание Трибенурон-метила в пробе, мг/кг;

Sст - высота (площадь) пика стандарта, мм;

Sпр - высота (площадь) пика образца, мм;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

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

m - масса анализируемого образца, г;

P - содержание Трибенурон-метила в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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:

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

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

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * \bar{X}/100$,

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 0,01мг/кг»**

** - 0.01 мг/кг - предел обнаружения.*

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:

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

где, $\pm\Delta_{л,\overline{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\overline{X}'}$) – 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 и концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля К рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л.\bar{x}} + \Delta^2_{л.\bar{x}}}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \leq K, \qquad (2)$$

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)

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

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.

Калинин В.А., профессор, канд. с-х. наук, , Довгилевич Е.В., ст.н.сотр., канд. биол.наук, Калинина Т.С., ст.н. сотр., канд. с-х. наук, Довгилевич А.В., ст.н.сотр., канд.хим.наук, Устименко Н.В., ст.н.сотр., канд. биол. наук.

Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева. Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., Д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976- 43-26.

gost.e-ecolog.ru