Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

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

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2076—4.1.2088—06

Издание официальное

Москва, 2009

gost.e-ecolog.ru

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

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

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2076—4.1.2088—06

Издание официальное

ББК 51.21
О37

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

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

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

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

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 11,75

Тираж 100 экз.

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

Содержание

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

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и
благополучия человека
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

«30» июля 2006 г.

Дата введения – с 1 января 2007.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

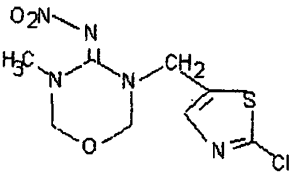
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по определению остаточных количеств тиаметоксама в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии
МУК 4.1.2081-06

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тиаметоксама в семенах и масле подсолнечника в диапазоне 0,02-0,2 и 0,05-0,5 мг/кг, соответственно.

Тиаметоксам – действующее вещество инсектицида Круйзер, СК (350 г/л), фирма производитель Сингента Кроп Протекшн АГ (Швейцария).

3-(2-хлор-тиазол-5-илметил)-5-метил-[1,3,5]оксадиазинан-4-илиден-N-нитроамин (ИЮПАК)

3-[(2-хлор-5-тиазолил) метил] тетрагидро-5-метил-N-нитро-4H-1,3,5-оксадиазин-4-имин (С.А.)



$C_8H_{10}ClN_5O_3S$

Мол. масса: 291,7

Белый кристаллический порошок без запаха. Температура плавления: 139,1^{0}С.

Давление паров при 25^{0}С: 6,6 х 10^{-9}Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = -0,13. Растворимость (г/л) при 25^{0}С: ацетонитрил - 78, ацетон - 42,5, дихлорметан - 43, метанол - 10,2, этилацетат - 5,7, толуол -0,6, вода - 4,1.

Вещество медленно гидролизуется в водных растворах при pH 5 и 7 (DT_{50} = более 1 года) и значительно быстрее при pH 9 (DT_{50} = 4,2 дня).

В присутствии света в водных фотолитических условиях тиаметоксам быстро деградирует с периодом полураспада 2,3 дня.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 1560 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - более 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - более 3720 мг/м^3 воздуха. Тиаметоксам не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика. LC_{50} для рыб-более 100 мг/л (96 час.).

Инсектицид нетоксичен для птиц, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов и токсичен для пчел.

Гигиенические нормативы для тиаметоксама в России: ПДК в почве – 0,2 мг/кг; ПДК в воде – 0,1 мг/дм^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,4 мг/м^3; МДУ для зерна хлебных злаков, картофеля, огурцов и гороха – 0,05 мг/кг, баклажанов, перца и томатов – 0,2 мг/кг, яблок и груш – 0,1 мг/кг.

Область применения препарата

Тиаметоксам является системным инсектицидом. Он воздействует на никотиново-ацетилхолиновый рецептор нервной системы насекомых, обладает быстрой желудочной и контактной активностью. Вещество проявляет высокую эффективность против сосущих, грызущих и почвенных насекомых на овощных, зерновых и цветочных культурах, фруктовых и цитрусовых деревьях, хлопчатнике и рисе.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ под торговым названием Круйзер, СК (350 г тиаметоксама в 1 л препарата). Препарат предназначен для борьбы с почвенными и грызущими насекомыми на посевах подсолнечника, рапса, горчицы и сахарной свеклы путем предпосевной обработки семян при норме расхода препарата до 14л/т семян.

1. Метрологические характеристики метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов изме-

рений 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	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	4,0	11,1	17,2
	более 0,1 до 0,2	25	2,5	7,0	10,8
Масло подсолнечника	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,6	10,1	15,6
	более 0,1 до 0,5	25	3,3	9,4	14,6

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/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±%
Семена подсолнечника	0,02	0,02-0,2	82,6	3,8	±3,5
Масло подсолнечника	0,05	0,05-0,5	82,1	3,9	±3,6

2. Метод измерений

Методика основана на определении тиаметоксама с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Контроль тиаметоксама в образцах семян и масла подсолнечника осуществляется по содержанию

вещества после экстракции его из матриц ацетонитрилом при ультразвуковой обработке, 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

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирма Knauer, Германия)	Номер Госреестра №16848-03
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 2104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$	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

Тиаметоксам, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,3% (Сингента, Швейцария)	
Ацетон, чда	ГОСТ 2603-79
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6702
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794

Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Пропанол-2 (изопропиловый спирт), хч	ТУ 6-09-402-75

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 см^3	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 мм	ГОСТ 25336
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена вместимостью 250 см^3	ГОСТ 5614
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 50 и 100 см^3	ГОСТ 9737
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см^3	ГОСТ 9737
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм	
Колонка хроматографическая, стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм) (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва)	ТУ 4215-001-05451931-94
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236-79
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Патроны концентрирующие Диапак С8 (0,6 г), (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва)	ТУ 4215-002-05451931-94
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-11-917-74
Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, 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 жидкостного хроматографа
вместимостью 100 мм^3, модель Microliter # 1710 (Hamilton,США)
Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 20 см^3 ГОСТ 22090

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 веществами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной 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+5)^{0}С и относительной влажности не более 80%.
* выполнение измерений на жидкостном 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, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют. Непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.2. Очистка н-гексана

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

7.1.3. Очистка этилацетата

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

7.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель 60 (0,063-0,20 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130^{0}С в течение 5 часов.

7.2. 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 5 г силикагеля I степени активности в 20 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 см^3 ацетона и 30 см^3 смеси гексан-ацетон (9:1, 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 ацетонитрила и 10 см^3 смеси ацетонитрил-вода (5:95, по объему) со скоростью 5 см^3/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения тиаметоксама на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора № 1 тиаметоксама с концентрацией 10 мкг/см^3 в метаноле (п. 7.6.2), раствор

упаривают досуха, остаток растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан-ацетон (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 40 $см^3$ смеси гексан-ацетон (1.1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 40 $см^3$ смеси гексан-ацетон (4:6, по объему). Фракционно (по 10 $см^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ метанола, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 3,5 $см^3$ подвижной фазы, подготовленной по п. 7.4., перемешивают и анализируют на содержание тиаметоксама по п.9.5.

7.4. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$помещают 330 $см^3$ метанола, 670 $см^3$ бидистллированной воды, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.4.) при скорости подачи растворителя 1 $см^3$/мин не менее 2-х часов до установления стабильной базовой линии.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходный раствор тиаметоксама для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,010 г тиаметоксама, растворяют в 40-50 $см^3$ метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают.

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

7.6.2. Раствор тиаметоксама №1 для градуировки (концентрация 2 мкг/$см^3$).

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 2 $см^3$ исходного раствора тиаметоксама с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п.7.6.1.), разбавляют метанолом до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб семян и масла с внесением при оценке полноты извлечения тиаметоксама из исследуемых образцов используют изопропанольный раствор тиаметоксама с концентрацией 1 мкг/$см^3$.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше -18^0С в течение месяца.

7.6.3. Рабочие растворы №№ 2-5 тиаметоксама для градуировки (концентрация 0.02-0,2 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 тиаметоксама с концентрацией 2 мкг/см^3 (п.7.6.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.4., тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией тиаметоксама 0.02, 0.04, 0.1 и 0.2 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Установление градуировочной характеристики

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

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора (п.7.6.3) 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 «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы семян высушивают до стандартной влажности и хранят в матерчатых или бумажных мешочках при температуре 4^{0}С. Масло хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4^{0}С. В некоторых случаях масло получают из семян подсолнечника экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом семена размалывают на мельнице.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция тиаметоксама

9.1.1. *Семена.* Навеску (10 г) размолотых семян подсолнечника помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, приливают 100 см^3 ацетонитрила и помещают в ультразвуковую ванну на 5 минут. Раствор (с осадком) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают

50 $см^3$ ацетонитрила. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и ¼ его часть (эквивалентна 2,5 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2., 9.3. и 9.4.

9.1.2. *Масло.* Навеску масла (5 г) помещают в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, приливают 30 $см^3$ ацетонитрила и смесь интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После полного разделения фаз верхнюю ацетонитрильную фракцию отделяют, и собирают в химический стакан вместимостью 100 $см^3$. Операцию экстракции масла повторяют, используя 30 $см^3$ ацетонитрила. Измеряют объем объединенной ацетонитрильной фракции и 1/5 ее часть (эквивалентна 1 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2., 9.3. и 9.4.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К экстракту, полученному по пп. 9.1.1. и 9.1.2. и помещенному в делительную воронку, приливают 20 $см^3$ гексана и смесь встряхивают в течение 1 минуты. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, а нижнюю ацетонитрильную фракцию собирают в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. К ацетонитрильному экстракту прибавляют 20 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают и раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (15-20 $см^3$) при температуре не выше 40^0С. К водному остатку прибавляют 10 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. В воронку вносят 30 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще два раза, используя по 15 $см^3$ хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^0С 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 круглодонной колбе, полученный по 9.2., растворяют в 0,5 $см^3$ ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,5 $см^3$ гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 5 $см^3$ смеси гексан-ацетон (1:1, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 35 $см^3$ смеси гексан-ацетон (1:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Таметоксам элюируют с колонки 35 $см^3$ смеси гексан-ацетон (4:6, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^0С.

9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак С8

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п.9.3., растворяют в 0,2 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,8 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на концентрирующий патрон Диапак С8, подготовленный по п.7.2., элюат отбрасывают. Колонку промывают 7 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (5:95, по объему), элюат отбрасывают. Тиаметоксам элюируют с патрона 3 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (2:8, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха при температуре не выше 40^0С. Остаток в колбе растворяют в 1 $см^3$ метанола, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 1,5 $см^3$ подвижной фазы, подготовленной по п.7.3., перемешивают и анализируют на содержание тиаметоксама по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирма Knauer, Германия)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая в качестве неподвижной фазы Диасфер 110-С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: метанол-вода (33:67, по объему)

Скорость потока элюента: 0,7 мл/мин

Рабочая длина волны: 255 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Время удерживания тиаметоксама: около 5 минут

Линейный диапазон детектирования 0,4 - 4 нг

Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-С8 Т (6 мкм)

Время удерживания тиаметоксама: около 4 мин 40 сек.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,2 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

10. Обработка результатов анализа

Содержание тиаметоксама рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание тиаметоксама в пробе, мг/кг;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_0 - высота пика стандарта, мм;

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

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

m - масса анализируемой части образца, г (для семян – 2,5 г; для масла – 1 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;

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 при вероятности P= 0.95,

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

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

менее 0.02 мг/кг для семян и менее 0,05 мг/кг ** для масла*

** 0.02 мг/кг - предел обнаружения для семян.*

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

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, *при этом:*

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$,

где Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

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

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

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

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;

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

14. Разработчики

Талалакина Т.Н., науч. сотр; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол.наук.

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

Подпись руки Талалакиной Т.Н., Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ (Банюлис Г.Г.)

gost.e-ecolog.ru