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

«20» июль 2006 г.
Дата введения: 01 сентября 2006 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ.

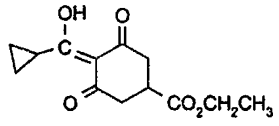
Методические указания
по определению остаточных количеств тринексапак-этила и его основного метаболита тринексапака-кислоты в воде, тринексапак-этила по метаболиту тринексапаку-кислоте в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

МУК 4.1.2086-06

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тринексапак-этила и его основного метаболита тринексапака-кислоты в воде в диапазоне 0,002 - 0,02 мг/дм^3; тринексапак-этила по метаболиту тринексапаку-кислоте в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур в диапазонах 0,1 – 1 мг/кг; 0,05 – 0,5 мг/кг и 0,1 – 1 мг/кг, соответственно.

Тринексапак-этил (CGA 163935) - действующее вещество препарата МОДУС, КЭ (250 г/л) фирма производитель «Сингента».

4-циклопропил(гидрокси)метилен-3,5-диоксоциклогексанкарбоновая кислота, этиловый эфир (IUPAC)



$C_{13}H_{16}O_5$

Мол. масса 252,3

Белое твердое вещество без запаха (технический продукт с содержанием д.в ≥ 92% - жидкость (30^{0}C) от желтого до красно-коричневого цвета или полу расплавившаяся масса (20^{0}C), со слабым сладким запахом. Температура плавления: 36^{0}C, кипения > 270^{0}C. Давление паров: 1,6 мПа (20^{0}C); 2,16 мПа (25^{0}C). Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} logP = 1,6 (pH 5.3, 25^{0}C). Плотность 1,215 г/см^3

(20^0C). Растворимость в этаноле, ацетоне, толуоле, н-октаноле – 100%; н-гексане – 5% (25^0C). Растворимость в воде (г/дм^3, 25^0C): 2.8 (pH 4.9); 10.2 (pH 5.5); 21.1 (pH 8.2).

Вещество стабильно к нагреванию до температуры кипения. Фотолитически и гидролитически устойчиво при нормальных условиях окружающей среды (pH 6-7, 25^0C), менее стабильно в щелочах. pKa 4.57.

Основным продуктом деградации тринексапак-этила является тринексапак-кислота.

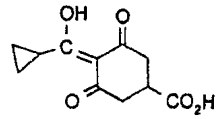
Краткая токсикологическая характеристика тринексапак-этила

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 4460 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - более 4000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 5300 мг/м^3 воздуха (48 часов).

Тринексапак-этил не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кроликов.

Основной метаболит тринексапак-этила: тринексапак-кислота (CGA 179500)

4-циклопропил(гидрокси)метилен-3,5-диоксоциклогексанкарбоновая кислота (IUPAC)



$C_{11}H_{12}O_5$

Мол. масса 224.2

Бесцветный порошок без запаха. Температура плавления: 144.4^{0}C, кипения 220^{0}C. Давление паров при 25^0C: $1{,}41*10^{-3}$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 1,8 (pH 2). Плотность 1,41 (20^0C). Растворимость в воде (г/дм^3): 13 (pH 5); 200 (pH 6.8); 260 (pH 8.4).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3): ацетон - 95, этилацетат – 37, метанол –84, октанол – 17. pKa_1 5.32; pKa_2 3.93.

Область применения препарата

Препарат МОДУС, КЭ (250 г/л), д.в. тринексапак-этил – регулятор роста растений, рекомендуемый для применения на зерновых - пшеница, ячмень (яровые и

озимые), рожь (озимая), овес, а также рапсе с нормой расхода 0.25 – 0.5 л/га (1 – 3 опрыскивания с интервалом 7 дней) для зерновых и 1.0 – 1.5 л/га для рапса.

Рекомендуемые гигиенические нормативы: ПДК в воде водоемов – 0.01 мг/дм^3, ОДК в почве – 0.2 мг/кг, ВМДУ в зерне зерновых колосовых – 0.1 мг/кг.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и её составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P=0,95 не превышает значений, приведенных в таблице 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Определяемое вещество	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (дм^3)	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P=0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Вода					
Тринексапак-этил	от 0,002 до 0,01 вкл.	100	6,5	18	21
	более 0,01 до 0,02 вкл.	50	4,6	13	16
Тринексапак-кислота	от 0,002 до 0,01 вкл.	100	4,7	13	15
	более 0,01 до 0,02 вкл.	50	5,8	16	19
Почва					
Тринексапак-кислота	от 0,1 до 1	50	5,6	16	19
Зерно					
Тринексапак-кислота	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	5,2	15	18
	более 0,1 до 0,5 вкл.	25	4,9	14	16
Солома					
Тринексапак-кислота	от 0,1 до 1	25	5,7	16	19

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

Таблица 2

Определяемое вещество	Метрологические параметры, P = 0.95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Вода					
Тринексапак-этил	0,002	0,002 – 0,02	80,0	6,1	±3,2
Тринексапак-кислота	0,002	0,002 – 0,04	81,0	4,6	±2,4
Почва					
Тринексапак-кислота	0,1	0,1 – 1,0	80,1	4,1	±2,2
Зерно					
Тринексапак-кислота	0,05	0,05 – 0,5	80,8	5,3	±2,8
Солома					
Тринексапак-кислота	0,1	0,1 – 1,0	80,5	4,6	±2,4

1. Метод измерений

Методика основана на определении веществ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Определение действующего вещества – тринексапак-этила и его метаболита тринексапака-кислоты в образцах воды включает экстракцию дихлорметаном, последующую очистку на патронах C18 Sep Pak (определение тринексапак-этила) или Oazis® MAX (определение тринексапака-кислоты). Контроль тринексапак-этила в образцах почвы, зерна, соломы осуществляется по содержанию его основного метаболита тринексапака-кислоты после экстракции из анализируемого образца смесью метанол-фосфатный буфер (pH 7), последовательной очистки экстракта на концентрирующих патронах C18 Sep Pak, затем Oazis® MAX.

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 (фирмы Perkin-Elmer, США)	Номер Госреестра 15945-97
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
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, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
РН-метр модель рН-211 (фирмы HANNA Instruments, Германия)	Номер Госреестра 14300-94
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 и 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Тринексапак-этил, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,6% (Сингента, Швейцария)	
Тринексапак-кислота (CGA 179500), аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99% (Сингента, Швейцария)	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-4326-76
Вода деионизованная	ГОСТ 6702
Калий фосфорнокислый однозамещенный, хч	ГОСТ 4198
Кислота орто-фосфорная, хч, 85%	ГОСТ 6552
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204

Кислота соляная (хлороводородная), хч	ГОСТ 3118
Кислота уксусная, лед., хч	ГОСТ 61
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий гидроксид (натр едкий), хч	ГОСТ 4328
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий фосфорнокислый двузамещенный, 12-ти водный, хч	ГОСТ 4172
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Тетрабутиламмоний гидросульфат (Merck , Германия)	

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851-78
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678-77
Воронка Бюхнера	ГОСТ 25336
Воронки делительные вместимостью 150, 250 и 1500 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9773
Колба Бунзена	ГОСТ 25336
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 400–500 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы грушевидные на шлифе вместимостью 100-150 $см^3$	ГОСТ 9737
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Стаканы химические, вместимостью 100, 500 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	

Патроны для твердофазной экстракции C18 Sep Pak, Classik (Waters, США)	
Патроны для твердофазной экстракции Oazis® MAX 6cc/500 mg (Waters, США)	
Ротационный вакуумный испаритель B-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник водяной обратный	ГОСТ 9737
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Кромасил 100 C18, зернением 7 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50 – 100 мм^3	
Шприцы медицинские с разъемом Льюера вместимостью 5 и 10 см^3	ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, 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 $(20\pm5)^0$С и относительной влажности не более 80%.

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка ацетонитрила (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, растворов внесения, буферных растворов, смесей для экстракции, для приготовления градуировочных растворов и растворения образцов, подвижных фаз для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка концентрирующих патронов С18 Sep Pak и Oazis® MAX.

7.1. 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.

7.2. Приготовление 1 М и 0,1 М растворов орто-фосфорной кислоты

Для приготовления 1 М раствора орто-фосфорной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 68 $см^3$ 85%-ной орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

Для приготовления 0,1 М раствора орто-фосфорной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 100 $см^3$ 1 М раствора орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Приготовление 0,1%-ного раствора орто-фосфорной кислоты

В мерную колбу вместимостью 500 $см^3$ помещают 200-300 $см^3$ дистиллированной воды, вносят 0,5 $см^3$ орто-фосфорной кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, вновь перемешивают.

7.4. Приготовление 1 М и 0,1 М растворов гидроксида натрия

Для приготовления 1 М раствора гидроксида натрия в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 40 г гидроксида натрия, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

Для приготовления 0,1 М раствора гидроксида натрия в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 100 $см^3$ 1 М раствора гидроксида натрия, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.5. Приготовление 1 N и 0,1 N растворов серной кислоты

Для приготовления 1 N раствора серной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 300-400 $см^3$ деионизованной воды, вносят 28 $см^3$ концентрированной серной кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, вновь перемешивают.

Для приготовления 0,1 N раствора серной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 100 $см^3$ 1 N раствора серной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.6. Приготовление 0,12 N раствора соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 30-40 $см^3$ деионизованной воды, вносят 10 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, вновь перемешивают.

7.7. Приготовление фосфатного буферного раствора (pH 7)

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 14,684 г $Na_2HPO_4*12H_2O$ (0,041 моль) и 3,81 KH_2PO_4 г (0,028 моль), доводят объем раствора до метки деионизованной водой, перемешивают. Контролируют pH раствора с помощью pH-метра, при необходимости доводят его значение до 7 добавлением 0,1 М растворов гидроксида натрия или орто-фосфорной кислоты.

7.8. Приготовление смеси растворителей для градуировочных растворов и растворения образцов при определении тринексапака-кислоты

В коническую колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 90 $см^3$ деионизованной воды, 5 $см^3$ фосфатного буферного раствора (pH 7), 5 $см^3$ ацетонитрила и 0,4 г тетрабутиламмоний гидросульфата, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.9. Приготовление водного фосфатного буферного раствора (pH 2)

В коническую колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 30 $см^3$ 1 М раствора орто-фосфорной кислоты, 20 $см^3$ 1 N раствора серной кислоты, 20 $см^3$ 1 М раствора гидроксида натрия, 660 $см^3$ деионизованной воды и 4 г тетрабутиламмоний гидросульфата, перемешивают. Контролируют pH раствора с помощью pH-метра, при

необходимости доводят его значение до 2 добавлением 1 М растворов гидроксида натрия или орто-фосфорной кислоты.

7.10. Приготовление смеси растворителей для экстракции тринексапака-кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 30 см^3 метанола, 56 см^3 деионизованной воды и 14 см^3 фосфатного буферного раствора (pH 7), перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.11. Приготовление смеси растворителей для элюции тринексапак-этила с концентрирующего патрона C18 Sep Pak

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, 500 см^3 0,1% раствора орто-фосфорной кислоты, добавляют 3 см^3 ледяной уксусной кислоты перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.12. Подготовка концентрирующих патронов C18 Sep Pak и Oazis® MAX

Концентрирующий патрон промывают с помощью медицинского шприца 10 см^3 метанола со скоростью прохождения растворителя через патрон 1-2 капли в сек., затем 10 см^3 деионизированной воды. Патроны готовят непосредственно перед использованием.

7.13. Подготовка подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ (определение тринексапак-этила)

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 500 см^3 ацетонитрила, 500 см^3, деионизованной воды, 1 см^3 орто-фосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.14. Подготовка подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ (определение тринексапака-кислоты)

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 720 см^3 водного фосфатного буферного раствора (pH 2) и 280 см^3 ацетонитрила, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.15. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.13 или 7.14) при скорости подачи растворителя 1 см^3/мин не менее 2-х часов до установления стабильной базовой линии.

7.16. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.16.1. Исходные растворы тринексапак-этила и тринексапака-кислоты для градуировки (концентрация 200 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3

помещают 0,02 г тринексапак-этила (или тринексапака-кислоты), растворяют в 40 - 50 $см^3$ ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4-6^{0}С в течение 3-х месяцев.

7.16.2. Растворы тринексапак-этила и тринексапака-кислоты № 1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 5 $см^3$ исходного раствора тринексапак-этила (или тринексапака-кислоты) с концентрацией 200 мкг/$см^3$ (п. 7.16.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки.

Градуировочные растворы № 1 хранят в холодильнике при температуре 4-6^{0}С в течение месяца.

Раствор тринексапак-этила с концентрацией 10 мкг/$см^3$ используют для приготовления проб воды с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.16.3. Рабочие растворы № 2 –5 тринексапак-этила для градуировки (концентрация 0.1 - 1.0 мкг/см^3)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 $см^3$ градуировочного раствора № 1 тринексапак-этила с концентрацией 10 мкг/$см^3$ (п. 7.16.2.), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.13, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией тринексапак-этила 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/$см^3$, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед употреблением.

7.16.4. Рабочие растворы № 2 –6 тринексапака-кислоты для градуировки (концентрация 0.1 - 1.0 мкг/см^3)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 $см^3$ градуировочного раствора № 1 тринексапака-кислоты с концентрацией 10 мкг/$см^3$ (п. 7.16.2.), доводят до метки смесью растворителей, приготовленной по п. 7.8, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией тринексапака-кислоты 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/$см^3$, соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4-6^{0}С в течение 5-ти дней.

7.16.4. Растворы внесения тринексапака-кислоты (концентрация 1 и 10 мкг/см^3) В 2 мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают по 0.5 и 5 $см^3$ исходного раствора тринексапака-кислоты с концентрацией 200 мкг/$см^3$ (п. 7.16.1.),

доводят до метки деионизованной водой, тщательно перемешивают, получают растворы с концентрацией тринексапака-кислоты 1.0 и 10 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4-6^{0}С в течение 5-ти дней.

Эти растворы используют для приготовления проб воды, почвы, зерна и соломы с внесением тринексапака-кислоты при оценке полноты извлечения вещества методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.17. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (отн. единицы) от концентрации тринексапак-этила (или тринексапака-кислоты) 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 и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.1 или 9.3.2. 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», 13586.3-83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», Р 50436-92 «Зерновые. Отбор проб зерна», 27262-87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051-79 от 21.08.79).

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

Образцы почвы подсушивают в темноте (при температуре до 160^{0}С) до постоянного веса, помещают в герметичную тару и хранят в защищенном от света месте при комнатной температуре не более 6-ти месяцев.

Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре –18^{0}С.

Зерно и солому, подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в тканевых мешочках в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре

не более 6-ти месяцев. Измельченные пробы зерна (аналитические образцы массой 20 г) замораживают и хранят при температуре -18^0С.

Перед анализом воду фильтруют через неплотный бумажный фильтр, почву – просеивают через сито с диаметром отверстий 5 мм, зерно и солому измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

9.1.1. Определение тринексапак-этила

9.1.1.1. Экстракция

Образец анализируемой воды объемом 750 $см^3$ помещают в делительную воронку вместимостью 1500 $см^3$, вносят 30 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают, доводят pH раствора до 3±0,1 с помощью 0,12 N соляной кислоты или 0,1 N гидроксида натрия (контролируя его значение по pH-метру). Затем в воронку добавляют 50 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, фильтруя его через 2-х см слой безводного сульфата натрия, помещенный в конусную химическую воронку диаметром 60 мм, снабженную бумажным фильтром «красная лента». Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды порциями хлористого метилена по 50 $см^3$. Отстоявшийся слой хлористого метилена (нижняя фаза) фильтруют в колбу с ранее полученным экстрактом.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40^0С, подвергают очистке в соответствии с п. 9.1.1.2.

9.1.1.2. Очистка экстракта

Остаток в колбе, полученный по п. 9.1.1.1., растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, помещая на 30 сек на ультразвуковую баню, добавляют 4 $см^3$ деионизованной воды, вновь помещают на 30 сек на ультразвуковую баню. Затем полученный раствор вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон C18 Sep Pak, подготовленный по п. 7.12. со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. После нанесения пробы патрон промывают 5 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (1:3, по объему), элюат отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 15 $см^3$ смеси ацетонитрил-0,1% ортофосфорная кислота (8:2, по объему) + 0,3% уксусной кислоты (приготовленной по п. 7.11), собирая элюат в коническую колбу с пришлифованной пробкой,

перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр и анализируют содержание тринексапак-этила по п. 9.3.1.

9.1.2. Определение тринексапака-кислоты

9.1.2.1. Экстракция

Образец анализируемой воды объемом 125 см^3 * помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3, вносят 10 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия и 5 см^3 1 N серной кислоты, перемешивают. Затем в воронку добавляют 20 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 250 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще трижды порциями хлористого метилена по 20 см^3. Отстоявшийся слой хлористого метилена (нижняя фаза) переносят в колбу с ранее полученным экстрактом.

К объединенному экстракт добавляют 5 см^3 фосфатного буферного раствора (pH 7), упаривают хлористый метилен на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40^{0}C, оставшийся водный раствор подвергают очистке в соответствии с п. 9.1.2.2.

9.1.2.2. Очистка экстракта

Раствор в колбе, полученный по п. 9.1.2.1. вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон Oazis MAX, подготовленный по п. 7.12. со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. После нанесения пробы патрон промывают 5 см^3 смеси метанол-вода (3:7, по объему), затем 5 см^3 деионизованной воды элюаты отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 10 см^3 0,1 N серной кислоты, собирая элюат в делительную воронку вместимостью 150 см^3. Вносят в воронку 5 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия и 10 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды порциями хлористого метилена по 10 см^3. Отстоявшийся слой хлористого метилена (нижняя фаза) переносят в колбу с ранее полученным экстрактом.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40^{0}C, остаток растворят в 2,5 см^3 смеси растворителей,

* Выбор данного объема анализируемого образца воды обеспечивает аналогичный предел обнаружения основного вещества и метаболита.

подготовленной по п. 7.11 (помещая на ультразвуковую баню на 30-40 сек), фильтруют через мембранный фильтр и анализируют содержание тринексапака-кислоты по п. 9.3.2.

9.2. Почва, зерно, солома

9.2.1. Экстракция

Образец измельченного зерна массой 20 г, соломы массой 10 г, помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 60 $см^3$ смеси для экстракции, приготовленной по п. 7.10, и помещают на встряхиватель на 2 часа.

Образец сухо-воздушной почвы массой 10 г помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 60 $см^3$ смеси для экстракции, приготовленной по п. 7.10, и кипятят с обратным холодильником в течение 2-х часов.

Пробам дают отстояться 1 час, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр «красная лента». Аликвоту отфильтрованного экстракта объемом 15 $см^3$ (1/4 часть экстракта, эквивалентная 5 г зерна и 2,5 г соломы и почвы) переносят в коническую колбу или стакан вместимостью 100 $см^3$ и подвергают очистке по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта

Раствор в колбе, полученный по п. 9.2.1. вносят с помощью медицинского шприца на 2 последовательно соединенных концентрирующих патрона C18 Sep Pak, подготовленных по п. 7.12., со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. Пропущенный через патроны раствор собирают в коническую колбу (или химический стакан) вместимостью 100 $см^3$. Далее патроны (не разъединяя) промывают смесью метанол-вода (2:8, по объему) дважды порциями по 5 $см^3$. Все элюаты собирают вместе в конической колбе, перемешивают и вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон Oazis MAX, подготовленный по п. 7.12., со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. После нанесения пробы патрон промывают 5 $см^3$ смеси метанол-вода (3:7, по объему), затем 5 $см^3$ деионизованной воды, элюаты отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 20 $см^3$ 0,1 N серной кислоты, собирая элюат в делительную воронку вместимостью 150 $см^3$. Вносят в воронку 5 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия и 25 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. Нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды порциями хлористого метилена по 25 $см^3$. Отстоявшийся слой хлористого

метилена (нижняя фаза) объединяют с ранее полученным экстрактом, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40^0С. Остаток растворят в 2,5 $см^3$ смеси растворителей, подготовленной по п. 7.11 (помещая на ультразвуковую баню на 30-40 сек), фильтруют через мембранный фильтр и анализируют содержание тринексапака-кислоты по п. 9.3.2.

9.3. Условия хроматографирования

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирмы Perkin-Elmer, США)

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Кромасил 100 С18, зернением 7 мкм.

Температура колонки: комнатная

Скорость потока элюента: 1 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 280 нм

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

9.3.1. Определение тринексапак-этила

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода – орто-фосфорная кислота (50:50:0,1, по объему)

Ориентировочное время выхода тринексапак-этила: 8,4 – 8,7 мин

Линейный диапазон детектирования 2 – 20 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой № 1, приготовленной по п. 7.7.

9.3.2. Определение тринексапака-кислоты

Подвижная фаза: фосфатный буфер (pH 2) – ацетонитрил (72:28, по объему)

Ориентировочное время выхода тринексапака-кислоты: 10,5 – 10,9 мин

Линейный диапазон детектирования 2 – 20 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют смесью растворителей, приготовленной по п. 7.11.

10. Обработка результатов анализа

10.1. Вода

Содержание тринексапак-этила в пробе с учетом его основного метаболита тринексапака-кислоты в эквиваленте действующего вещества (X, мг/дм^3) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(А + Б*К)\ V}{W}\text{, где}$$

А, Б - концентрации тринексапак-этила и тринексапака-кислоты, соответственно, найденные по градуировочным графикам, мкг/см^3;

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

W - объем анализируемого образца, см^3.

К – коэффициент пересчета содержания тринексапака-кислоты на эквивалент тринексапак-этила, по соотношению молекулярных масс (равен 1,125).

10.2. Почва, растительный материал

Содержание тринексапак-этила в пробе по его основному метаболиту тринексапаку-кислоте в эквиваленте действующего вещества (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{Б*К*V*С}{m}\text{, где}$$

Б - концентрация тринексапака-кислоты, найденная по градуировочному графику, мкг/см^3;

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

m - масса анализируемого образца, г.

К – то же;

С = 4, с учетом объема экстракта, взятого для анализа.

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), %.

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

*«содержание вещества в пробе воды менее 0,002 мг/дм^3»**

*«содержание вещества в пробе зерна менее 0,05 мг/кг»**

*«содержание вещества в пробе соломы и почвы менее 0,1 мг/кг»**

** - 0,002 мг/ дм^3, 0,05 мг/кг и 0,1 мг/кг - пределы обнаружения в воде, зерне, соломе (почве), соответственно.*

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 $\pm \Delta_{л,\overline{X}} \left(\pm \Delta_{л,\overline{X'}}\right)$ – 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)

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

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.

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана); Иванов Г.Е. (Роспотребнадзор).

gost.e-ecolog.ru