Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания флуопирама в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника и рапса, зерне, масле и зеленой массе кукурузы и сои, зерне и зеленой массе гороха методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3271—15

Издание официальное

Москва • 2016

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания флуопирама в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника и рапса, зерне, масле и зеленой массе кукурузы и сои, зерне и зеленой массе гороха методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3271—15

ББК 51.23
И37

И37 **Измерение** остаточного содержания флуопирама в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника и рапса, зерне, масле и зеленой массе кукурузы и сои, зерне и зеленой массе гороха методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—20 с.

ISBN 978—5—7508—1482—4

1. Разработаны сотрудниками ГНУ Всероссийского НИИ фитопатологии (Л. В. Дубовая, А. М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 мая 2015 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 18 июня 2015 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 19.02.16

Формат 60x84/16 Печ. л. 1,25

Тираж 125 экз. Заказ 30

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2016
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
18 июня 2015 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания флуопирама в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника и рапса, зерне, масле и зеленой массе кукурузы и сои, зерне и зеленой массе гороха методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3271—15

Свидетельство о метрологической аттестации от 27.10.2014 № 01.00225/205-37-14.

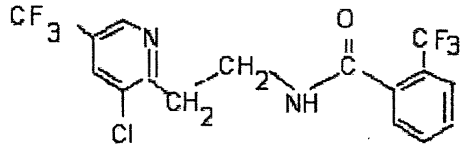
1. Назначение и область применения

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций флуопирама в зерне и масле кукурузы в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в семенах и масле подсолнечника и зерне гороха – в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг, в зерне, масле и зеленой массе сои – в диапазоне 0,1—1,0 мг/кг, в семенах, масле и зеленой массе рапса – в диапазоне 0,3—3,0 мг/кг, в зеленой массе кукурузы, подсолнечника и гороха – в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Флуопирам

Название вещества по ИЮПАК: N-{2-[3-хлор-5-(трифторметил)пиридин-2-ил]этил}-2-(трифторметил)бензамид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{11}ClF_6N_2O$.

Молекулярная масса: 396,7.

Белый порошок без запаха. Температура плавления: 117,5 °С. Давление паров при 20 °С: $1,2 \times 10^{-6}$ Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода при 40 °С: K_{ow} log P = 3,3 (pH 6,5). Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон, дихлорметан, метанол, этилацетат – более 250; толуол – 62,2; гептан – 0,66; вода – 0,016.

Вещество стабильно на свету и в водных растворах (pH 4—9).

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс – более 5 112 мг/м^3 воздуха.

Область применения. Флуопирам – новый фунгицид из класса пиридинил-этилбензамидов. Он эффективен в борьбе с возбудителями мучнистой росы, серой гнили, склеротиниоза и монилиального ожога на виноградниках, посадках семечковых и косточковых плодовых, овощных и полевых культурах.

Проходит регистрационные испытания в Российской Федерации в качестве фунгицида в составе смесевого препарата на посевах кукурузы, подсолнечника, рапса, сои и гороха с нормой расхода до 125 г д.в./га.

2. 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 табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон измерений содержания флуопирама, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности), ±δ, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости, r, %, $P = 0,95$, $n = 2$	Критическая разность для результатов анализа, полученных в двух лабораториях, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$)
1	2	3	4	5	6	7
Зеленая масса подсолнечника	От 0,05 до 0,10 вкл.	35	9	14	25	35
	Св. 0,10 до 0,50 вкл.	30	8	12	22	29
Семена подсолнечника	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	24	6	9	17	22
	Св. 0,10 до 0,50 вкл.	20	4	6	11	15
Масло подсолнечника	От 0,05 до 0,10 вкл.	25	6	9	17	22
	Св. 0,10 до 0,50 вкл.	20	5	8	14	20
Зеленая масса рапса	От 0,30 до 1,0 вкл.	25	5	8	14	20
	Св. 1,0 до 3,0 вкл.	20	4	6	11	15
Семена рапса	От 0,30 до 1,0 вкл.	24	5	8	14	20
	Св. 1,0 до 3,0 вкл.	15	3	5	8	12,5
Масло рапса	От 0,30 до 1,0 вкл.	20	4	6	11	15
	Св. 1,0 до 3,0 вкл.	14	3	5	8	12,5
Зеленая масса кукурузы	От 0,05 до 0,10 вкл.	38	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,50 вкл.	22	6	9	17	22

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Зерно кукурузы	От 0,02 до 0,10 вкл.	37	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,20 вкл.	29	7	11	19	27
Масло кукурузы	От 0,02 до 0,10 вкл.	38	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,20 вкл.	27	7	11	19	27
Зеленая масса сои	От 0,10 до 0,50 вкл.	33	8	12	22	29
	Св. 0,50 до 1,0 вкл.	28	6	9	17	22
Зерно сои	От 0,10 до 0,50 вкл.	38	9	14	25	35
	Св. 0,50 до 1,0 вкл.	28	5	8	14	20
Масло сои	От 0,10 до 0,50 вкл.	30	6	9	17	22
	Св. 0,50 до 1,0 вкл.	25	5	8	14	20
Зеленая масса гороха	От 0,05 до 0,10 вкл.	38	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,50 вкл.	22	6	9	17	22
Зерно гороха	От 0,05 до 0,10 вкл.	38	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,50 вкл.	22	6	9	17	22

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 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	средняя полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Зеленая масса подсолнечника	0,05	0,05—0,5	87,5	2,57	±1,36
Семена подсолнечника	0,05	0,05—0,5	86,1	2,59	±1,37
Масло подсолнечника	0,05	0,05—0,5	86,0	2,55	±1,35
Зеленая масса рапса	0,3	0,3—3,0	86,1	2,12	±1,12
Семена рапса	0,3	0,3—3,0	86,5	2,26	±1,20
Масло рапса	0,3	0,3—3,0	87,7	2,62	±1,39
Зеленая масса кукурузы	0,05	0,05—0,5	88,7	2,37	±1,25
Зерно кукурузы	0,02	0,02—0,2	87,4	2,73	±1,44
Масло кукурузы	0,02	0,02—0,2	87,1	2,75	±1,46
Зеленая масса сои	0,1	0,1—1,0	88,2	2,98	±1,58
Зерно сои	0,1	0,1—1,0	88,2	2,40	±1,27
Масло сои	0,1	0,1—1,0	86,2	2,37	±1,25
Зеленая масса гороха	0,05	0,05—0,5	88,1	3,20	±1,69
Зерно гороха	0,05	0,05—0,5	87,9	2,93	±1,55

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции флуопирама из зеленой массы водным раствором ацетона, из зерна и семян – водным раствором ацетонитрила или ацетона, из масла – ацетонитрилом, очистке экстрактов от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем, разделении компонентов очищенных экстрактов методом капиллярной газожидкостной хроматографии при программировании температуры с последующим измерением содержания флуопирама с использованием электронно-захватного детектора и обработкой хроматограмм методом абсолютной калибровки.

4. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с электронно-захватным детектором	
Весы аналитические с пределом взвешивания до 110 г и допустимой погрешностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные с пределом взвешивания до 160 г и допустимой погрешностью 0,005 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Пипетки градуированные 1-1-2-1; 1-1-2-2; 1-2-2-5; 1-2-2-10	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 1-25; 1-50; 1-100; 1-500; 1-1000	ГОСТ 1770—74
Микрошприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1—10 $см^3$	ТУ 64-1-2850

Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

4.2. Реактивы

Флуопирам, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,1 %	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый (поташ), хч	ГОСТ 4221—76
Калия перманганат, хч	ГОСТ 20490—75
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Натрий серно-кислый безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), осч	ГОСТ 9293—74
Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая, нестерильная	ГОСТ 5556—81
Гомогенизатор с металлическим стаканом вместимостью не менее 500 $см^3$ и скоростью вращения ножа не менее 10 000 об./мин	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Колба Бунзена вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с нанесенной пленкой из 100 % диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236—79
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Силикагель для колоночной хроматографии с размером частиц 0,063—0,200 мм и диаметром пор 60А	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93
Фильтры бумажные средней плотности	ТУ 6-09-1678—86

Примечание. Допускается использование вспомогательных средств измерений, устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

5. Требования безопасности, охраны окружающей среды

5.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

5.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см^2), необходимо соблюдать «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576-03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают лиц, имеющих высшее или специальное химическое образование, опыт работы в химической лаборатории, прошедших обучение и владеющих техникой проведения газохроматографического анализа, освоивших метод анализа в процессе тренировки и уложившихся в нормативы контроля.

7. Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

7.1. Условия приготовления растворов и подготовки проб к анализу

– температура воздуха	(20 ± 5) °С
– атмосферное давление	(84—106) кПа
– относительная влажность воздуха	не более 80 %

7.2. Условия хроматографического анализа

Температура термостата испарителя	260 °С
Температура термостата детектора	280 °С
Режим программирования температуры колонки:	
– начальная температура	160 °С

– изотермический режим при 160 °С	2 мин
– скорость подъема температуры в диапазоне от 160 до 240 °С	20 °С/мин
– изотермический режим при 240 °С	5 мин
– скорость подъема температуры в диапазоне от 240 до 270 °С	10 °С/мин
– изотермический режим при 270 °С	8 мин
Расход газов:	
– газа-носителя (азот)	2,3 $см^3$/мин
– поддувочного газа через детектор	25 $см^3$/мин
Деление потока	1 : 3
Объем вводимой пробы	1 $мм^3$
Линейный диапазон детектирования:	(0,01—0,1) нг

8. Подготовка к выполнению измерений

Перед проведением измерений проводят следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения флуопирама на колонке.

8.1. Очистка органических растворителей

8.1.1. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания последней в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над калием углекислым. Срок хранения – 1 неделя.

8.1.2. Очистка этилацетата

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %.

Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого в конической колбе растворяют в 40—60 $см^3$ деионизованной воды. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем раствора до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора 1 неделя.

Этилацетат промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлорида кальция, сушат над безводным углекислым калием и перегоняют. Срок хранения – 1 неделя.

8.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и калием углекислым (на 1 $дм^3$ ацетона 10 г калия перманганата и 2 г калия углекислого). Срок хранения – 1 неделя.

8.2. Приготовление ацетоновых растворов флуопирама с концентрациями 10 и 1 мкг/$см^3$ для внесения

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г флуопирама, растворяют в 40—50 $см^3$ ацетона, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают. Получают раствор вещества с концентрацией 100 мкг/$см^3$.

В мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 и 10 $см^3$ исходного раствора флуопирама с концентрацией 100 мкг/$см^3$, разбавляют ацетоном до метки и перемешивают. Получают растворы вещества с концентрациями 1 и 10 мкг/$см^3$ соответственно. Эти растворы используются для приготовления проб зерна, семян, масла и зеленой массы с внесением при оценке полноты извлечения флуопирама из исследуемых образцов. Растворы хранят при температуре не выше –18 °С в течение месяца.

8.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280 °С и скорости газа-носителя 2 $см^3$/мин в течение 8—10 часов.

8.4. Приготовление градуировочных растворов

8.4.1. Исходный градуировочный раствор флуопирама с массовой концентрацией 100 мкг/см. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г флуопирама, растворяют в 30—40 $см^3$ этилацетата, доводят объем раствора до метки этилацетатом, тщательно перемешивают.

Раствор хранят при температуре не выше –18 °С в течение 2 месяцев.

8.4.2. Градуировочный раствор флуопирама с массовой концентрацией 1 мкг/$см^3$ (раствор № 1). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ исходного раствора флуопирама с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 8.4.1), разбавляют смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2 до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов № 2—5.

Градуировочный раствор № 1 хранят при температуре не выше –18 °С в течение месяца.

8.4.3. Градуировочные растворы флуопирама с массовой концентрацией 0,01—0,1 мкг/см³ (растворы № 2—5). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают 1, 2, 5 и 10 см³ градуировочного раствора № 1 флуопирама с массовой концентрацией 1 мкг/см³ (п. 8.4.2), доводят до метки смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией флуопирама 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см³ соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.5. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ · с) от концентрации флуопирама в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 градуировочным растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм³ каждого градуировочного раствора (п. 8.4.3) и анализируют при условиях п. 7.2. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8.6. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией исследуемого вещества в начале, середине и в конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца выполняется условие:

$$A = \frac{\left|S_{изм} - S_{гр}\right|}{S_{гр}} \cdot 100 \le K_{гр}, \text{ где} \qquad (1)$$

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика флуопирама в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, мВ · с;

$K_{гр}$ – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (равен 10 % при $P = 0{,}95$).

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль стабильности с

использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново.

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

8.7. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 20 см и внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 3 г силикагеля в 10 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного серно-кислого натрия высотой 1 см. Колонку промывают последовательно 20 $см^3$ ацетона и 10 $см^3$ гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.8. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания флуопирама из колонки с силикагелем

При отработке методики или поступлении новой партии силикагеля проводят определение объема элюента, необходимого для полного вымывания флуопирама из колонки с силикагелем.

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,5 $см^3$ градуировочного раствора флуопирама в смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2 с массовой концентрацией 1 мкг/$см^3$ (п. 8.4.2) и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 8.7. Промывают колонку 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 60 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, сухие остатки растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и затем хроматографируют в соответствии с п. 7.2.

По результатам обнаружения флуопирама в каждой из фракций определяют объем смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему), необходимый для полного вымывания флуопирама из колонки.

9. Отбор, хранение и подготовка проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ Р 50436—92 «Зерновые. Отбор проб зерна», ГОСТ 13634—

90 «Кукуруза. Требования при заготовке и поставке», ГОСТ 28674—90 «Горох. Требования при заготовке и поставке», ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 11291—93 «Масло подсолнечника. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 8988—02 «Масло рапсовое. Технические требования», ГОСТ 27262—87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб», а также «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.1979).

Пробы зеленой массы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С до анализа. Пробы зерна и семян высушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу. Пробы масла хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4 °С. В некоторых случаях масло получают из семян масличных культур экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа. Перед проведением анализа зеленую массу измельчают, а семена и зерно размалывают на мельнице.

10. Проведение определения

10.1. Экстракция флуопирама

Приготовление водного раствора ацетона с объемной долей 80 %.

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 вносят 100 см^3 деионизованной воды и доводят объем раствора до метки ацетоном. Срок хранения – 1 неделя.

10.1.1. Зеленая масса растений. Навеску измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 % и гомогенизируют 3 минуты при 10 000 об./мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 %. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Аликвоту фильтрата, эквивалентную 2 г зеленой массы кукурузы, гороха и подсолнечника или 1 г зеленой массы рапса и сои, переносят в круглодонную колбу вместимостью

100 см^3 и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водного остатка (1—2 см^3). К водному остатку добавляют 30 см^3 деионизованной воды и раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.2.

10.1.2. Зерно кукурузы и сои, семена подсолнечника и рапса. Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 50 см^3 смеси ацетонитрил–вода в объемном соотношении 9 : 1 и помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 30 см^3 смеси ацетонитрил–вода в объемном соотношении 9 : 1. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Аликвоту фильтрата, эквивалентную 2 г зерна кукурузы и семян подсолнечника или 1 г зерна сои и семян рапса, переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 25 см^3 ацетонитрила, 10 см^3 гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После расслоения фаз гексановый слой отбрасывают, а водно-ацетонитрильную фракцию переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.3.

10.1.3. Зерно гороха. Образец размолотого зерна массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 50 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 % и помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 30 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 80 %. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Аликвоту фильтрата, эквивалентную 2 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водного остатка (~1 см^3). К водному остатку добавляют 30 см^3 деионизованной воды и раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.2.

10.1.4. Масло. К образцу масла (2 г для кукурузы и подсолнечника и 1 г для сои и рапса), помещенного в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 15 см^3 гексана и перемешивают. К раствору добавляют 30 см^3 ацетонитрила и колбу помещают на аппарат для

встряхивания на 30 минут. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ через слой ваты, помещенный в конусную воронку. Экстракцию масла повторяют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ ацетонитрила. После декантации ацетонитрильной фракции вату промывают 10 $см^3$ ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. Объединенную ацетонитрильную фазу переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 15 $см^3$ гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После разделения фаз гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.3.

10.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К водным экстрактам зеленой массы растений и зерна гороха, полученным по пп. 10.1.1 и 10.1.3 и помещенным в делительные воронки, приливают по 30 $см^3$ гексана и содержимое интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После разделения фаз органический слой фильтруют через слой безводного серно-кислого натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ гексана. Объединенную органическую фракцию упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.3.

10.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Остатки экстрактов зеленой массы, зерна, семян и масла, полученные по пп. 10.1.2, 10.1.4 и 10.2, растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, помещая в ультразвуковую ванну на 2 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 8.7. Колбу обмывают 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Флуопирам элюируют с колонки 45 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухие остатки экстрактов зеленой массы кукурузы, подсолнечника, сои и гороха, зерна гороха и сои и семян подсолнечника, соевого и

подсолнечного масла растворяют в 10 $см^3$, зерна и масла кукурузы – в 4 $см^3$, зеленой массы, семян и масла рапса – в 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2 и растворы анализируют на содержание флуопирама по п. 11.1.

Полнота извлечения флуопирама при проведении всех операций подготовки пробы не менее 86 % для образцов зеленой массы, зерна, семян и масла.

11. Выполнение измерений

11.1. В инжектор хроматографа вводят 1 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 10.1—10.3), анализируют при условиях п. 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

11.2. Для каждого образца зеленой массы растений и зерна гороха повторяют операции по пп. 10.1—10.3, 11.1, для образца семян, зерна и масла – по пп. 10.1, 10.3 и 11.1.

12. Обработка результатов измерений

12.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации.

Альтернативная обработка результатов.

По градуировочной характеристике находят значение массовой концентрации флуопирама в экстрактах, C, мкг/$см^3$.

Массовую долю флуопирама X (мг/кг) в образцах зеленой массы, зерна, семян и масла рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V}{0{,}86 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

C – значение массовой концентрации флуопирама в экстракте, мкг/$см^3$;

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

m – масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с силикагелем и последующего хроматографического определения, г;

0,86 – коэффициент извлечения флуопирама, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

12.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r \text{, где} \qquad (3)$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли флуопирама, мг/кг;

r – значение предела повторяемости, % (табл. 1).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МИ.

12.3. Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$\bar{X} \pm 0,01 \cdot \delta \cdot \bar{X} \text{, при } P = 0,95, \text{ где}$$

$\bar{X}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности измерений, % (табл. 1).

В случае, если полученный результат измерений ниже нижней границы диапазона измерений, результат анализа представляют в виде:

«массовая доля флуопирама в зеленой массе кукурузы, подсолнечника и гороха, семенах и масле подсолнечника и зерне гороха менее 0,05 мг/кг»;

«массовая доля флуопирама в зеленой массе, зерне и масле сои менее 0,1 мг/кг»;

«массовая доля флуопирама в зеленой массе, семенах и масле рапса менее 0,3 мг/кг»;

«массовая доля флуопирама в зерне и масле кукурузы менее 0,02 мг/кг».

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал флуопирама, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют и анализируют в соответствии с данной методикой.

13. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

13.1. Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводмости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

13.2. Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

13.3. Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предел воспроизводимости (R):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq R \text{, где} \qquad (4)$$

X_1, X_2 – результаты измерений массовой доли флуопирама, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

R – предел воспроизводимости (%), рассчитываемый по формуле:

$$R = 2{,}8 \cdot \sigma_R.$$

Если предел воспроизводимости не превышен, то приемлемы все результаты измерений и в качестве окончательного результата используют их среднее арифметическое значение. Если предел воспроизводимости превышен, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 (п. 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 (п. 5.3.4).

14. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 («Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»), используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по п. 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 и показателя правильности по п. 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—02.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

gost.e-ecolog.ru