**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3205—14**

Издание официальное

**Москва • 2015**

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3205—14**

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания. —М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—26 с.

ISBN 978—5—7508—1394—0

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, Т. С. Калинина).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 26 июня 2014 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 30 июля 2014 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.23**

ISBN 978—5—7508—1394—0

**© Роспотребнадзор, 2015**
**© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015**

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
30 июля 2014 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

## Методические указания
## МУК 4.1.3205—14

Свидетельство о метрологической аттестации № 01.00282-2008/0167.27.05.13 от 27.05.2013.

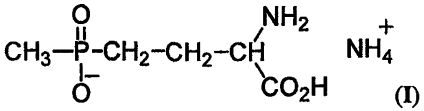
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита, 3-метилфосфино-пропионовой кислоты, в клубнях картофеля в диапазоне 0,25—2,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: **глюфосинат аммония (I)**.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Аммония DL–гомоаланин-4-ил(метил)фосфинат (I).

Структурная формула:



(I)

Эмпирическая формула: $C_5H_{15}N_2O_4P$.

Молекулярная масса: 198,2.

Агрегатное состояние: бесцветный кристаллический порошок со слабым специфическим запахом.

Температура плавления: 215 °С.

Давление паров (при 20 °С): более 0,1 мПа.

Коэффициент распределения октанол/вода: $K_{ow}$ log P < 0,1.

Растворимость в воде (г/дм$^3$, при 22 °С): 1 370.

Растворимость (г/дм$^3$, при 20 °С): ацетон – 0,16, этанол – 0,65, этилацетат, толуол – 0,14, н-гексан – 0,2.

Вещество стабильно при нормальных условиях хранения, не гидролизуется в умеренно кислых и щелочных средах.

Достаточно быстро разрушается в воде и почве: $DT_{50}$ в воде и почве – 3—20 дней.

*Краткая токсикологическая характеристика.* Глюфосинат аммония относится к мало опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс – от 1 620 до 2 000 мг/кг) и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 4 000 мг/кг), но к опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) от 1 260 до 2 600 мг/м$^3$).

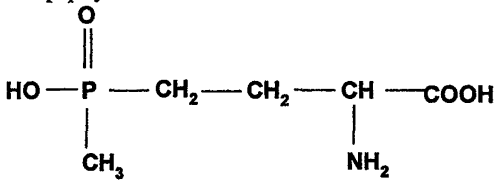
Глюфосинат аммония не обладает тератогенным, канцерогенным и мутагенным действием. Малотоксичен для рыб, водорослей, дафний, дождевых червей, пчел, птиц и диких животных.

*Область применения.* Глюфосинат аммония (I) – десикант и неселективный контактный гербицид с ограниченной системностью, передвигающийся только внутри обработанных листьев. В процессе поступления в растение вещество диссоциирует и в клетках присутствует только глюфосинат свободная кислота (II). Гербицид используется для уничтожения однолетних и многолетних широколистных и злаковых сорняков в парах, посадках плодовых и цитрусовых культур, ягодных кустарниках и виноградниках путем направленного опрыскивания в период активного роста сорных растений, а также на овощных культурах при довсходовом применении препарата.

Глюфосинат аммония применяется для десикации ботвы картофеля, подсолнечника, клещевины, люцерны и сеникации яровой пшеницы. Используется в России в качестве десиканта на посевах подсолнечника, рапса, клещевины, льна-долгунца, люцерны и клевера лугового (семенные посевы) при норме расхода от 0,225 до 0,45 кг/га (по д.в).

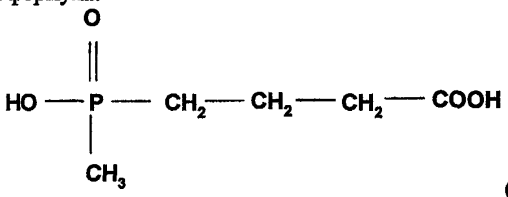
Глюфосинат аммония в воде и растениях превращается в глюфосинат свободную кислоту (II), которая подвергается разрушению, результатом чего является образование токсикологически значимого метаболита – 3-метилфосфино-пропионовой кислоты (III).

**Глюфосинат свободная кислота (II)**
DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфиновая кислота.
Структурная формула:



(II)

Эмпирическая формула: $C_5H_{12}NO_4P$.
Молекулярная масса: 181,1.
**Метаболит глюфосината аммония (III)**
3-метилфосфино-пропионовая кислота.
Структурная формула:



(III)

Эмпирическая формула: $C_4H_9O_4P$.
Молекулярная масса: 152,1.

В России установлены следующие гигиенические нормативы для глюфосината аммония: ДСД – 0,02 мг/кг массы человека; МДУ в продукции (мг/кг): плодовые семечковые и косточковые, ягоды и другие мелкие фрукты (кроме смородины), цитрусовые, виноград, морковь – 0,2; картофель – 0,5; подсолнечник (семена), рапс (зерно) – 5,0; гречиха, просо, зерно хлебных злаков – 0,4; растительные масла (кроме нерафинированных рапсового и подсолнечного масла) – 0,4; горох – 3,0; соя (бобы), фасоль – 2,0.

## 1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее

составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

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

Таблица 1

**Метрологические параметры для глюфосината аммония и его метаболита**

| Анализируемый объект | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности) ± δ, % $P = 0,95$ | Стандартное отклонение повторяемости, $\sigma_r$, % | Предел повторяемости, $r$, % | Предел воспроизводимости, $R$, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Картофель | Дериват глюфосината аммония (IV) | | | | |
| | 0,25—2,5 | 25 | 3,75 | 10,43 | 14,60 |
| | Дериват метаболита глюфосината аммония (V) | | | | |
| | 0,25—2,5 | 25 | 3,11 | 8,65 | 12,10 |

Таблица 2

**Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для глюфосината аммония и его метаболита**

| 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, ±, % |
| Картофель | Дериват глюфосината аммония (IV) | | | | |
| | 0,25 | 0,25—2,5 | 83,37 | 4,47 | 1,81 |
| | Дериват метаболита глюфосината аммония (V) | | | | |
| | 0,25 | 0,25—2,5 | 82,48 | 5,15 | 2,12 |

## 2. Метод измерения

Метод основан на определении глюфосината аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты по их дериватам (IV и V соответственно) методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после экстракции веществ из образцов водой, очистки экстрактов на концентрирующих патронах

№ 2, дериватизации веществ с помощью триметилортоацетата в кислой среде и последующей очистки полученных дериватов на концентрирующих патронах № 1.

Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность метода достигается за счет подбора условий дериватизации анализируемых веществ, подбора капиллярной колонки и условий программирования ее температуры.

## 3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

### *3.1. Средства измерений*

| | |
|---|---|
| Весы аналитические класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г | |
| Весы лабораторные общего назначения класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г | |
| Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |
| Микрошприц объемом 10 $мм^3$ со шкалой деления 0,1 $мм^3$ и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 % | |
| Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$ | ГОСТ 29227—91 |
| Пробирки мерные на 10 и 25 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |
| Хроматографическая система, включающая:<br>– хроматограф газовый с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по фосфору в Паратион-метиле $3 \times 10^{-14}$ г/$см^3$ и снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;<br>– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения | |

| | |
|---|---|
| хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ | |
| Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |

**Примечание.** Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *3.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Глюфосинат аммония (I), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,2 % | CAS 77182-82-2 |
| Глюфосинат свободная кислота (II), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,5 % | CAS 51276-47-2 |
| 3-метилфосфино-пропионовая кислота (III), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 97,9 % | CAS 15090-23-0 |
| Метил-4-(метоксиметил)-фосфино-2-ацетамидобутират (IV), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 97,0 % | CAS 134932-24-4 |
| Метил-3-(метоксиметил)фосфино-пропионат (V), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,8 % | CAS 134932-24-4 |
| Азот, осч | ГОСТ 9293—74 |
| Аммиак водный (28—30 % $NH_3$), чда | ГОСТ 3760—79 |
| Ацетон, осч | ТУ 6-09-3513—86 |
| Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости) | ГОСТ 6709—72 |
| Гелий, очищенный | ТУ-51-940—80 |
| Калий марганцово-кислый, чда | ГОСТ 20490—75 |
| Кальций хлористый, ч | ТУ 6-09-4711—81 |
| Кислота муравьиная, чда | ГОСТ 5848—73 |
| Кислота уксусная, ледяная | ГОСТ 61—75 |
| Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с гидрофильным слабокислым | |

| | |
|---|---|
| сорбентом с постоянной активностью с размером частиц 63—200 мкм (С) (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 1) | ТУ 4215-002-05451931—94 |
| Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с сильноосновным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм с привитыми четвертичными аммониевыми группами (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 2) | ТУ 4215-002-05451931—94 |
| Метилацетат, ч | ТУ 6-09-300—87 |
| Метилен хлористый, хч | ТУ 6-09-2662—77 |
| Натрия гидроокись, хч | ГОСТ 4328—77 |
| Натрий серно-кислый, безводный, хч | ГОСТ 4166—76 |
| Спирт метиловый (метанол), хч | ГОСТ 6995—77 |
| Толуол, химически чистый | ГОСТ 5789—78 |
| Триметилортоацетат | CAS 1445-45-0 |
| Этилацетат, чда | ГОСТ 22300—76 |

**Примечание.** Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *3.3. Вспомогательные устройства, материалы*

| | |
|---|---|
| Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами | ГОСТ 25336—82 |
| Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту | |
| Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$ | |
| Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная | ГОСТ 5556—81 |
| Виалы (пузырьки) с тефлоновыми прокладками емкостью 40 $см^3$ | |
| Воронки делительные на 250 и 500 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Воронки лабораторные, стеклянные | ГОСТ 25336—82 |
| Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до | |

| | |
|---|---|
| 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С | |
| Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 и 4 000 $см^3$ ТС | ТУ 92-891.029—91 |
| Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренним диаметром 0,32 мм, длиной 15 м, с неподвижной фазой, содержащей 50 % фенила и 50 % метилполисилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм | |
| Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс, с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин | |
| Сито лабораторное с полотном из латуни или нержавеющей стали с размером ячеек 1 мм | ГОСТ 3826—82 и ГОСТ 6613—86 |
| Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—2 000 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$ | |
| Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие, диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г | ТУ-6-09-1678—86 |
| Центрифуга лабораторная, настольная с максимальным рабочим числом оборотов 4 000 об./мин, с рабочим объемом ротора 200 $см^3$ × 4 ячейки, выбираемый временной диапазон работы от 0 до 100 мин и с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$ | |

**Примечание.** Допускается применение 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—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. 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 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—91.

## 5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа

## 6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;

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

## 7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов № 1 и 2 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения веществ на концентрирующих патронах № 1 и 2, установление градуировочной характеристики.

### *7.1. Подготовка органических растворителей*

#### *7.1.1. Очистка ацетона*

Ацетон, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм$^3$. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см$^3$ аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцово-кислый калий из расчета 100 мг/дм$^3$. Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

#### *7.1.2. Очистка метанола*

Метанол, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный углекислый калий из расчета не менее 100 г/дм$^3$. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем метанол фильтруют через фильтр «красная лента» в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см$^3$ аппарата для перегонки растворителей.

Метанол перегоняют при температуре 64,7 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 64,7 °С, отбрасывают.

#### *7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды*

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см$^3$ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм$^3$ и кипятят в течение 6 ч.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

### *7.2. Приготовление растворов для проведения анализа*

#### *7.2.1. Приготовление рабочих растворов*

*7.2.1.1. Приготовление 0,015 М раствора водного аммиака.*

В мерную колбу вместимостью 1 000 см$^3$ добавляют 500 см$^3$ деионизированной воды и 10 см$^3$ водного аммиака (содержит 28—30 % $NH_3$), перемешивают и доводят водой объем в колбе до метки.

*7.2.1.2. Приготовление 0,01 М раствора гидроокиси натрия.*

В мерную колбу на 500 см$^3$ переносят 0,2 г гидроксида натрия, добавляют 200—300 см$^3$ дистиллированной воды. Затем раствор переме-

шивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

*7.2.1.3. Приготовление 40 %-го водного раствора муравьиной кислоты*

В мерную колбу объемом 1 000 см$^3$ помещают 500 см$^3$ очищенной воды, прибавляют 400 см$^3$ муравьиной кислоты, перемешивают и доводят водой объем в колбе до метки.

*7.2.2. Приготовление градуировочных растворов*

*7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией деривата глюфосината аммония (IV) 100 мкг/см$^3$ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).*

В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают 13,9 мг метил-4-(метоксиметил)-фосфинил-2-ацетамидобутирата (IV, дериват глюфосината аммония), растворяют в 40—50 см$^3$ метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают. Стандартный раствор № 1 хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

*7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией деривата метаболита глюфосината аммония (V) 100 мкг/см$^3$ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).*

В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают 10 мг метил-3-(метоксиметил)-фосфинил-пропионата (V, дериват метаболита), растворяют в 40—50 см$^3$ метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают. Стандартный раствор № 2 хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

*7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 10,0 мкг/см$^3$ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).*

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 10 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 100 см$^3$. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 10 см$^3$ и помещают в ту же колбу объемом 100 см$^3$, доводят объем до метки метилацетатом. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранят в холодильнике в течение 3 месяцев.

*7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 2,0 мкг/см$^3$ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).*

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 см$^3$ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

*7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 1,0 мкг/см$^3$ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).*

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 см$^3$ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

*7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 0,4 мкг/см$^3$ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).*

Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 2 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 см$^3$ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

*7.2.2.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 0,2 мкг/см$^3$ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).*

Из стандартного раствора № 5 отбирают пипеткой 2 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 10 см$^3$ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 7 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

*7.2.3. Приготовление растворов для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы*

*7.2.3.1. Стандартный раствор А с концентрацией глюфосината аммония 1 мг/см$^3$.*

В мерную колбу вместимостью 50 см$^3$ помещают 50,45 мг глюфосината аммония, добавляют 30—35 см$^3$ 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объ-

ем до метки этим же растворителем. Раствор А хранится в холодильнике не более одного месяца.

*7.2.3.2. Стандартный раствор В с концентрацией 3-метилфосфино-пропионовой кислоты 1 мг/см$^3$.*

В мерную колбу вместимостью 50 см$^3$ помещают 42 мг 3-метилфосфино-пропионовой кислоты, добавляют 30—35 см$^3$ 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объем до метки этим же растворителем. Раствор В хранится в холодильнике не более одного месяца.

*7.2.3.3. Стандартный раствор С с концентрацией глюфосината аммония и его метаболита по 10,0 мкг/см$^3$.*

Из стандартного раствора А отбирают пипеткой 1 см$^3$, помещают в мерную колбу объемом 100 см$^3$. Из стандартного раствора В отбирают пипеткой 1 см$^3$ и помещают в ту же колбу объемом 100 см$^3$, доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор С используется для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы и хранится в холодильнике не более одного месяца.

### *7.3. Установление градуировочной характеристики*

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации дериватов глюфосината аммония и его метаболита в растворе (мкг/см$^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,2; 0,4; 1,0; 2,0 мкг/см$^3$.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм$^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

### *7.4. Дериватизация*

Из стандартного раствора С (п. 7.2.3.3), содержащего по 10 мкг/см$^3$ глюфосината аммония и его метаболита, отбирают 0,5 см$^3$, помещают в концентратор объемом 100 см$^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

К сухому остатку в концентраторе приливают 3 см$^3$ ледяной уксусной кислоты, перемешивают содержимое и помещают концентратор на 1 мин в ультразвуковую ванну. Затем в колбу добавляют 12 см$^3$ триметилортоацетата и снова помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 4,5 ч.

К охлажденной реакционной смеси добавляют три порции по 15 см$^3$ каждая толуола и каждый раз выпаривают содержимое на ротационном вакуумном испарителе (для полного удаления реакционной смеси) при температуре не выше 40 °С до объема 1—2 см$^3$. Содержимое концентратора переносят в мерную пробирку и доводят объем до 4 см$^3$ толуолом. Пробу возвращают в концентратор объемом 100 см$^3$, добавляют 4 см$^3$ метилацетата, перемешивают содержимое и помещают концентратор в ультразвуковую ванну на 1 мин. Затем 1 мм$^3$ пробы вводят в хроматограф.

**Примечание:** При проведении дериватизации посуда и реактивы должны быть сухими.

### *7.5. Подготовка концентрирующих патронов № 2 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения глюфосината аммония и его метаболита на них*

#### *7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов № 2 для очистки экстракта*

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см$^3$/мин (1—2 кап./с).

Патрон № 2 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см$^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 см$^3$ 0,01 М раствора гидроокиси натрия, 10 см$^3$ воды. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

#### *7.5.2. Проверка хроматографического поведения глюфосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 2*

Из стандартного раствора **С** (п. 7.2.3.3), содержащего 10 мкг/см$^3$, отбирают 0,5 см$^3$, помещают в концентратор объемом 100 см$^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 20 см$^3$ воды, тщательно обмывая стенки концентратора, выдерживают 1—2 мин в ультразвуковой ванне и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см$^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С. Патрон промывают четырьмя-пятью порциями по

10 $см^3$ каждая 40 %-го водного раствора муравьиной кислоты. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С.

Патрон промывают 20 $см^3$ воды, элюат отбрасывают. Затем патрон промывают четырьмя-пятью порциями по 10 $см^3$ каждая 0,015 М раствора водного аммиака. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С.

Пробы подвергают дериватизации (п. 7.4) и анализируют на содержание дериватов глюфосината аммония и метаболита по п. 9.2.

Определяют фракции, содержащие дериваты глюфосината аммония и его метаболита, полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения дериватов глюфосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 2 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

### *7.6. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения дериватов глюфосината аммония и его метаболита на них*

#### *7.6.1. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта*

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин (1—2 кап./с).

Патрон № 1 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 $см^3$ смеси метилацетата с толуолом в соотношении 1 : 1, элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

#### *7.6.2. Проверка хроматографического поведения дериватов глюфосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 1*

Из стандартного раствора № 3 (п. 7.2.2.3), содержащего 10 мкг/$см^3$, отбирают 0,5 $см^3$, помещают в концентратор объемом 100 $см^3$ и упари-

вают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 4 $см^3$ толуола, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 4 $см^3$ метилацетата, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$. Промывают патрон последовательно 5 $см^3$ метилацетата, затем четырьмя-пятью порциями по 5 $см^3$ каждая смеси метилацетата с метанолом в соотношении 1 : 1. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$, упаривают до объема 0,5—1 $см^3$ на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Содержимое концентраторов переносят в мерную пробирку. Концентратор обмывают двумя порциями по 1,5 $см^3$ метилацетата, смывы объединяют в пробирке. Доводят объем в пробирке до 5 $см^3$ и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие дериваты глюфосината аммония и его метаболита, полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения дериватов глюфосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

## 8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТ 27853—88 «Овощи соленые и квашеные, плоды и ягоды моченые. Приемка, отбор проб», ГОСТ 13341—77 «Свежие и свежемороженые овощи, картофель, бахчевые, фрукты, ягоды, грибы. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. Технические условия».

Пробы клубней картофеля хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С.

## 9. Выполнение определения

### *9.1. Клубни картофеля*

#### *9.1.1. Экстракция*

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 см$^3$, приливают 50 см$^3$ дистиллированной воды и помещают на 15 мин на аппарат для встряхивания проб. По окончании экстракции пробу центрифугируют в течение 10 мин на скорости 3 000 оборотов в минуту. Экстракт фильтруют через фильтр низкой плотности в коническую колбу объемом 250 см$^3$. Экстракцию повторяют еще один раз, используя 50 см$^3$ дистиллированной воды и помещая на 15 мин на аппарат для встряхивания проб, центрифугируют и фильтруют в ту же коническую колбу.

#### *9.1.2. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 2*

Из экстракта, полученного по п. 9.1.1, отбирают аликвоту объемом 20 см$^3$, наносят на подготовленный концентрирующий патрон № 2.

Метаболит глюфосината аммония элюируют с патрона 40 см$^3$ 40 %-го водного раствора муравьиной кислоты. Элюат собирают в концентратор объемом 250 см$^3$.

Патрон промывают 20 см$^3$ воды, элюат отбрасывают. Элюируют глюфосинат аммония 40 см$^3$ 0,015 М раствора водного аммиака, элюат объединяют с предыдущим в тот же концентратор объемом 100 см$^3$. Объединенные элюаты выпаривают досуха при температуре 55—60 °С. Для удаления остатков воды в концентратор добавляют 5—10 мл этилацетата.

#### *9.1.3. Дериватизация*

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.2, приливают 3 см$^3$ ледяной уксусной кислоты, перемешивают содержимое и проводят дериватизацию как указано в п. 7.4.

#### *9.1.4. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1*

Раствор, полученный в п. 9.1.3, наносят на заранее подготовленный концентрирующий патрон № 1, элюат отбрасывают. Патрон промывают 5 см$^3$ метилацетата, элюат отбрасывают.

Дериваты глюфосината аммония и его метаболита элюируют с патрона 15 $см^3$ смеси метилацетата с метанолом в соотношении 1 : 1. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и упаривают до объема 0,5—1,0 $см^3$ на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Содержимое концентратора переносят в мерную пробирку. Концентратор обмывают двумя порциями по 1,5 $см^3$ метилацетата, смывы объединяют в пробирке. Доводят объем в пробирке до 5 $см^3$ и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

### *9.2. Условия хроматографирования*

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по фосфору в Паратион-метиле $3 \times 10^{-14}$ г/$см^3$ и снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренний диаметром 0,32 мм, длиной 15 м, с неподвижной фазой, содержащей 50 % фенила и 50 % метилполисилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм.

Температура термостата колонки программированная: начальная температура – 130 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки по 25 °С в минуту до 270 °С, выдержка 5 мин. Температура испарителя – 230 °С, детектора – 300 °С.

Газ 1 – гелий (газ-носитель), регулятор расхода гелия – РРГ-10; давление на входе – 80 кПа, линейная скорость – 34,352 см/с, давление на выходе – 101,3 кПа; поток через колонку – 1,756 $см^3$/мин; мертвое время – 1,46 мин.

Газ 2 – гелий (сброс пробы), регулятор расхода гелия – РРГ-11, режим – сплитлесс, расход во время анализа – 10 $см^3$/мин, деление потока – 1 : 30, начало сброса 1 мин, длительность сброса – 2 мин.

Газ 4 – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 25 $см^3$/мин.

Газ 5 – водород, расход во время анализа – 11,5 $см^3$/мин.

Газ 6 – воздух, расход – 200 $см^3$/мин.

Продувка детектора и испарителя азотом после анализа – по 35 $см^3$/мин в течение 3 мин при температуре колонки 270 °С.

Время удерживания: первым с колонки выходит дериват метаболита (**V**), а затем дериват глюфосината аммония (**IV**).

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,2—2,0 нг.

## 10. Обработка результатов анализа

Содержание глюфосината аммония или его метаболита в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота в пробах клубней картофеля по пикам дериватов рассчитывают отдельно по формуле:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P \text{, где}$$

$X$ – содержание глюфосината аммония или его метаболита в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандартов дериватов глюфосината аммония или его метаболита, мВ;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мВ;

$A$ – концентрация стандартных растворов дериватов глюфосината аммония или его метаболита, мкг/$см^3$;

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

$m$ – масса анализируемого образца, г ($см^3$);

$P$ – содержание дериватов глюфосината аммония или его метаболита в аналитическом стандарте, %.

Общее содержание глюфосината аммония определяют путем простого суммирования полученных результатов.

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

$X_1, X_2$ – результаты параллельных определений, мг/кг или мг/дм$^3$;

$r$ – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8 \times \sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

## 12. Оформление результатов.

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

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

$\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta\cdot\bar{X}}{100}\text{, где}$$

$\delta$ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

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

«*содержание вещества в пробе менее 0,25 мг/кг*».*

* – 0,25 мг/кг – предел обнаружения.

## 13. Контроль качества результатов измерений.

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для дериватов глюфосината аммония и его метаболита проводят при смене основных градуировочных растворов № 1 и 2 каждые 6 месяцев, при смене основных градуировочных растворов № 3 – каждые 3 месяца, при смене

основных градуировочных растворов № 4, 5, 6 и 7 – каждый месяц, а также в начале и окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание дериватов глюфосината аммония и его метаболита в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,2 до 2,0 мкг/см$^3$.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \leq 10{,}38$ для глюфосината аммония и 2,90 – для его метаболита;

$X$ – концентрация глюфосината аммония и его метаболита (по дериватам) контрольного измерения, мкг/см$^3$;

$C$ – известная концентрация градуировочных растворов дериватов глюфосината аммония и его метаболита в метилацетате, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см$^3$;

10,38 или 2,90 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения ($A$) превышает 10,38 % (или 2,90 %), делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов дериватов глюфосината аммония и его метаболита, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг, при этом:

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$, где

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100}, \text{ где}$$

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

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

Норматив контроля $K$ рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.

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

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

$X_1$, $X_2$ – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг;

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

Приложение 1

**Полнота извлечения деривата глюфосината аммония (IV) из клубней картофеля (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)**

| Среда | Внесено, мг/кг | Обнаружено, мг/кг | Полнота определения, % |
|---|---|---|---|
| Клубни картофеля | 0,25 | 0,219 ± 0,009 | 87,4 |
| | 0,50 | 0,422 ± 0,020 | 84,5 |
| | 1,25 | 1,029 ± 0,026 | 82,3 |
| | 2,50 | 1,987 ± 0,070 | 79,3 |

Приложение 2

**Полнота извлечения деривата метаболита глюфосината аммония (V) из клубней картофеля (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)**

| Среда | Внесено, мг/кг | Обнаружено, мг/кг | Полнота определения, % |
|---|---|---|---|
| Клубни картофеля | 0,25 | 0,219 ± 0,004 | 87,5 |
| | 0,50 | 0,425 ± 0,010 | 85,0 |
| | 1,25 | 1,007 ± 0,024 | 80,6 |
| | 2,50 | 1,920 ± 0,074 | 76,8 |

**Определение остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии**

**Методические указания**
**МУК 4.1.3205—14**

Редактор Н. В. Кожока
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 16.06.15

Формат 60x84/16

Усл. печ. л. 1,63

Тираж 150 экз.

Заказ 43

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
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 8(495)952-50-89

gost.e-ecolog.ru