Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний
МУК 4.1.3182—4.1.3189—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 пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний
МУК 4.1.3182—4.1.3189—14

ББК 51.23+51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—112 с.

ISBN 978—5—7508—1313—1

1. Разработаны сотрудниками ГНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» Россельхозакадемии.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 26.06.2014 № 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 24 июля 2014 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23+51.21

Редактор Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 02.04.15

Формат 60x84/16 Усл. печ. л. 6,51

Тираж 150 экз. Заказ 29

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

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

Содержание

Определение остаточных количеств бромоксинила в масле кукурузном методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.3182—14 4

Определение остаточных количеств квинмерака в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.3183—14 16

Определение остаточных количеств сульфосульфурона в воде, почве, зерне и соломе зерновых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3184—14 30

Определение остаточных количеств прохлораза в зеленой массе, семенах и масле подсолнечника и рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3185—14 44

Определение остаточных количеств диметоморфа в салате методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3186—14 57

Определение остаточных количеств эпоксиконазола в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.3187—14 70

Определение остаточных количеств ацетамиприда в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3188—14 84

Определение остаточных количеств тиофанат-метила и карбендазима в зеленой массе, соломе и зерне хлебных злаков, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3189—14 97

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тиофанат-метила и карбендазима в зеленой массе, соломе и зерне хлебных злаков, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3189—14

Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.173/01.00043/2014.

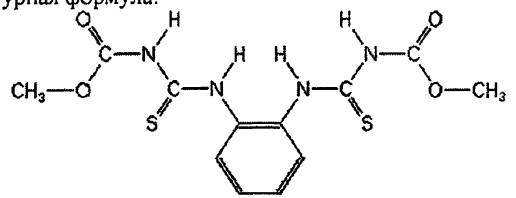
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тиофанат-метила в зеленой массе и соломе в диапазоне концентраций 0,5—5,0 мг/кг, в зерне, корнеплодах, ботве, яблоках и яблочном соке – 0,1—1,0 мг/кг; карбендазима в зеленой массе и соломе в диапазоне концентраций 0,5—5,0 мг/кг, в зерне, яблоках и яблочном соке – 0,1—1,0 мг/кг, в корнеплодах и ботве – 0,05—0,50 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: **тиофанат-метил.**

Название действующего вещества по ИЮПАК: Dimethyl 4,4'-(o-phenylene)bis(3-thioallophanate).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$.

Молекулярная масса: 342,39.

Химически чистое вещество представляет собой белое кристаллическое вещество.

Температура плавления: разлагается до плавления.

Давление пара при 25 °С: $8,8 \times 10^{-3}$ МПа.

Растворимость (в мг/дм^3 при 20 °С): вода – 20, гексан – 0,47, ксилол – 110, метанол – 7 800, этилацетат – 8 400.

Константа диссоциации (pKa) при 25 °С: 7,28 (слабая кислота).

Стабильность к гидролизу при 20 °С: DT_{50} = 867 дней (pH 5), 36 дней (pH 7), 0,7 дней (pH 9). Период полураспада в почве: DT_{50} = 0,6 дня.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс более 5 000 мг/кг, острая дермальная токсичность LD_{50} для крыс превышает 2 000 мг/кг.

Оказывает раздражающее действие на дыхательные пути, обладает репродуктивной токсичностью и мутагенностью.

Умеренно токсичен для пчел и дождевых червей.

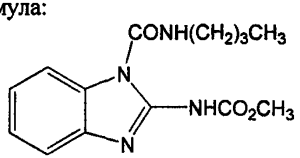
Область применения препарата. Контактно-системный фунгицид с защитными и лечебными свойствами.

Механизм действия. В грибах, растениях и других биологических средах вещество превращается в карбендазим, поэтому считается, что по механизму действия тиофанат-метил аналогичен бензимидазолам.

Название действующего вещества по ИСО: **карбендазим**.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Метилбензимидазол-2-илкарбамат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_9H_9N_3O_2$.

Молекулярная масса: 191,2.

Химически чистое вещество представляет собой кристаллический порошок без цвета и запаха.

Температура плавления: 302—307 °С (с разложением).

Давление пара: 0,09 мПа (20 °С); 0,15 мПа (25 °С); 1,3 мПа (50 °С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} lgP = = 1,38 (pH 5); 1,51 (pH 7); 1,49 (pH 9).

Растворимость в воде (мг/дм^3, 24 °С): 29 (pH 4); 8 (pH 7); 7 (pH 8).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 24 °С): диметилформамид – 5; ацетон – 0,3, этанол – 0,3; хлороформ – 0,1; этилацетат – 0,135; дихлорметан – 0,068; бензол – 0,036; циклогексан и диэтиловый эфир – < 0,01; н-гексан – 0,0005.

Субстанция карбендазима стабильна по крайней мере в течение 2 лет при температуре хранения ниже 50 °С, а также после 7 дней интенсивного облучения светом (20 000 люкс). В щелочных растворах медленно разлагается. При 22 °С DT_{50} превышает 350 дней (pH 5 и 7) и равен 124 дням (pH 9). Будучи слабым основанием (pK_a 4,2), в кислых растворах образует стабильные водорастворимые соли.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая оральная токсичность – LD_{50} для крыс – 6 400 мг/кг; для собак – более 2 500 мг/кг; дермальная – LD_{50} для кроликов более 10 000 мг/кг; для крыс – более 2 000 мг/кг; не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз; ингаляционная – при использовании водной суспензии 10 г/л эффект не обнаружен для крыс, кроликов, морских свинок и кошек. Период наблюдения 4 ч.

Область применения. Фунгицид системного действия с длительным защитным и целебным эффектом. Эффективно подавляет развитие заболеваний растений, вызываемых грибами из родов *Septoria, Fusarium, Erysiphe* и *Pseudocercosprella* на зерновых культурах; *Sclerotinia, Alternaria* и *Cylindrosporium* на семенах рапса.

Гигиенические нормативы для карбендазима, установленные в России: МДУ в сахарной свекле – 0,1 мг/кг; в зерне хлебных злаков – 0,5 мг/кг; в плодовых семечковых – 0,2 мг/кг.

1. Погрешность измерений

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

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм^3)	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{R,л}$, %	Показатель воспроизводимости, σ_R, %	Показатель точности* (границы относительной погрешности), ±δ, %
Тиофанат-метил					
Зеленая масса	0,5—5,0	7	9	12	23
Солома	0,5—5,0	7	9	12	23
Зерно	0,1—1,0	8	9	11	22
Корнеплоды	0,1—1,0	8	9	11	22
Ботва	0,1—1,0	8	9	11	22
Яблоки	0,1—1,0	8	9	11	22
Яблочный сок	0,1—1,0	8	9	11	22
Карбендазим					
Зеленая масса	0,5—5,0	7	9	12	23
Солома	0,5—5,0	7	9	12	23
Зерно	0,1—1,0	8	9	11	22
Корнеплоды	0,05—0,5	9	11	12	24
Ботва	0,05—0,5	9	11	12	24
Яблоки	0,1—1,0	8	9	11	22
Яблочный сок	0,1—1,0	8	9	11	22

* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ (в относительных единицах) при коэффициенте охвата $k = 2$

Таблица 2

Полнота извлечения тиофанат-метила, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг ($мг/дм^3$)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг ($мг/дм^3$)	Полната извлечения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Зеленая масса	0,5	0,5—5,0	79,0	2,59	3,63
Солома	0,5	0,5—5,0	84,9	3,17	4,44
Зерно	0,1	0,1—1,0	81,6	2,79	3,91
Корнеплоды	0,1	0,1—1,0	84,1	2,13	2,99
Ботва	0,1	0,1—1,0	87,5	3,04	4,26
Яблоки	0,1	0,1—1,0	77,8	1,93	2,70
Яблочный сок	0,1	0,1—1,0	78,1	1,52	2,13

Полнота извлечения карбендазима, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг ($мг/дм^3$)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг ($мг/дм^3$)	Полната извлечения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Зеленая масса	0,5	0,5—5,0	80,8	2,99	4,19
Солома	0,5	0,5—5,0	80,7	4,08	5,72
Зерно	0,1	0,1—1,0	80,4	3,13	4,39
Корнеплоды	0,05	0,05—0,5	86,5	4,33	6,07
Ботва	0,05	0,05—0,5	84,9	4,62	6,48
Яблоки	0,1	0,1—1,0	78,9	1,54	2,16
Яблочный сок	0,1	0,1—1,0	82,3	5,85	8,20

2. Метод измерений

Методика основана на определении тиофанат-метила и карбендазима методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового (УФ) детектора после извлечения из образцов ацетонитрилом, последующей очистки на сорбенте и в системе несмешивающихся растворителей.

Идентификация тиофанат-метила и карбендазима проводится по времени удерживания, количественное определение – мстодом абсолютной калибровки.

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Весы аналитические с пределом взвешивания до 210 г и пределом допустимой погрешности 0,2 мг	ГОСТ 24104—01
Весы технические с пределом взвешивания до 400 г и допустимой погрешностью 0,1 г	ГОСТ 24104—01
Колбы мерные на 10, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микродозаторы одноканальные переменного объема от 100 до 1 000 $мм^3$ и от 1 до 5 $см^3$	
Цилиндры мерные на 10, 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90

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

3.2. Реактивы

Ацетонитрил для ВЭЖХ	ТУ 2634-002-04715285—12
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Динатрия цитрат сесквигидрат, 99 %	
Карбендазим, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,0 %	
Кислота трифторуксусная, 99 %	
Магний серно-кислый безводный, 99 %	
Натрий серно-кислый безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, чда	ГОСТ 4233—77
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328—77

Натрия цитрат двуводный, 99 %	
Соляная кислота, хч	ГОСТ 3118—77
Тиофанат-метил, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,3 %	
Этилацетат, хч	ГОСТ 22300—76
Смесь первичных и вторичных аминов, № 5982-5753.	

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующих дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм	
Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-1081—73
Воронки делительные вместимостью 50 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки химические конусные	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками объемом 50 $см^3$	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Центрифуга с максимальной рабочей частотой вращения 4 000 об./мин.	
Устройство перемешивающее (50—200 колебаний в минуту)	ТУ4389-007-44330709—11

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 по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07.

Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют следующие условия:

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

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

7. Подготовка к определению

7.1. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа аналитическую колонку кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,1—0,2 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. Раствор трифторуксусной кислоты 0,05 %-й. В мерную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают (0,5 ± 0,01) г трифторуксусной кислоты, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.2.2. Раствор гидроксида натрия 2М. В мерную колбу объемом 100 $см^3$ помещают 8,0 г гидроксида натрия, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.2.3. Раствор соляной кислоты 0,1М. В мерную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 8,1 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.3. Приготовление основного и градуировочных растворов

7.3.1. Основной раствор тиофанат-метила с концентрацией 0,5 мг/$см^3$. Точную навеску тиофанат-метила (50 ± 0,5 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.3.2. Приготовление градуировочных растворов тиофанат-метила.

Градуировочные растворы с концентрациями тиофанат-метила 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя смесь ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.1. Раствор № 1 с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,2 $см^3$ основного раствора и доводят до метки смесью ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.2. Раствор № 2 с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 5,0 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.3. Раствор № 3 с концентрацией 0,2 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 2 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,1 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 1 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.5. Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/$см^3$. В мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,5 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.3. Основной раствор карбендазима с концентрацией 0,5 мг/см^3. Точную навеску тиофанат-метила (50,0 ± 0,5 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в метаноле и доводят объем до метки метанолом.

7.3.4. Приготовление градуировочных растворов карбендазима

Градуировочные растворы с концентрациями карбендазима 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см^3 готовят методом последовательного разбавления по объему, используя 0,05 %-ю трифторуксусную кислоту.

7.3.4.1. Раствор № 1 с концентрацией 1,0 мкг/см^3. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,2 см^3 основного раствора и доводят до метки 0,05 %-й трифторуксусной кислотой.

7.3.4.2. Раствор № 2 с концентрацией 0,5 мкг/см^3. В мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5,0 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 %-й трифторуксусной кислотой.

7.3.4.3. Раствор № 3 с концентрацией 0,2 мкг/см^3. В мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 %-й трифторуксусной кислотой.

7.3.3.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,1 мкг/см^3. В мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 %-й трифторуксусной кислотой.

7.3.4.5. Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см^3. В мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 %-й трифторуксусной кислотой.

Основные растворы тиофанат-метила и карбендазима можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты определения тиофанат-метила и карбендазима используют ацетонитрильные растворы веществ, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

7.4. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация тиофанат-метила или карбендазима в растворе) в хроматограф вводят по 10 мм^3 градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и

строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации тиофанат-метила или карбендазима в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент (K) в уравнении линейной регрессии:

$$C = KS, \text{ где}$$

S – площадь пика градуировочного раствора.

Градуировку признают удовлетворительной, если значение коэффициента линейной корреляции оказывается не ниже 0,99.

Градуировочную характеристику необходимо проверять при замене реактивов, хроматографической колонки или элементов хроматографической системы, а также при отрицательном результате контроля градуировочного коэффициента.

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

$$\frac{|C - C_K|}{C} \cdot 100 \le \lambda_{контр.}, \text{ где}$$

C – аттестованное значение массовой концентрации тиофанат-метила (или карбендазима) в градуировочном растворе;

C_K – результат контрольного измерения массовой концентрации тиофанат-метила (или карбендазима) в градуировочном растворе;

$\lambda_{контр.}$ – норматив контроля градуировочного коэффициента, % ($\lambda_{контр.}$ = 10 % при P = 0,95).

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (от 21.08.79 № 2051—79), а также в соответствии с ГОСТ Р 50436—92 (ИСО 950—79) «Зерновые. Отбор проб зерна». Пробы зерна и соломы для определения остатков в урожае хранят в бумажной или тканевой упаковке при комнатной температуре. Отбор проб свеклы производится в соответствии с ГОСТ 1722—85 «Свекла столовая свежая, заготовляемая и поставляемая». Для длительного хранения аналитические пробы свеклы (ботва и корнеплоды) помещают в морозильную камеру с температурой –18 °С и хранят в герметично закрытой полиэтиленовой таре. Отбор проб яблок производят в соответствии с

ГОСТ 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки». Пробы яблок и яблочного сока хранят до анализа в герметичной таре в морозильной камере при температуре не выше –18 °С, в холодильнике сок хранят при температуре 0—4 °С в стеклянной таре с притертой пробкой в течение недели.

9. Проведение определения

9.1. Экстракция тиофанат-метила и карбендазима

Навеску измельченной матрицы (10 г – зерно, корнеплоды и ботва сахарной свеклы, яблоки и яблочный сок; 2 г – зеленая масса и солома) помещают в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 $см^3$, последовательно добавляют 10 $см^3$ ацетонитрила, 4 г безводного сульфата магния, 1 г хлористого натрия, 1 г цитрата натрия двуводного и 0,5 г динатрия цитрата сесквигидрата. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4 000 об./мин. От верхнего ацетонитрильного слоя отбирают 5 $см^3$, переносят в центрифужную пробирку вместимостью 15 $см^3$, содержащую 150 мг смеси первичных и вторичных аминов и 900 мг безводного сульфата магния. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4 000 об./мин.

Для определения тиофанат-метила отбирают аликвоту 0,5 $см^3$, переносят ее в виалу для хроматографирования, добавляют 0,5 $см^3$ 0,05 %-й трифторуксусной кислоты и 10 $мм^3$ вводят в хроматограф.

Для определения карбендазима отбирают аликвоту 1,0 $см^3$, переносят в круглодонную колбу и быстро упаривают досуха на ротационном испарителе. К сухому остатку добавляют 5 $см^3$ 0,1 М соляной кислоты и переносят в делительную воронку. Кислый раствор промывают двумя порциями по 2 $см^3$ этилацетата, подщелачивают 2 М раствором гидроксида натрия до pH 9 и экстрагируют карбендазим двумя порциями по 3 $см^3$ этилацетата. Органические фракции пропускают через слой безводного сульфата натрия, собирая в круглодонную колбу, и упаривают на роторном испарителе. Сухой остаток растворяют в 1,0 $см^3$ 0,05 %-й трифторуксусной кислоты и 10 $мм^3$ водят в хроматограф.

Примечание. Определение тиофанат-метила необходимо проводить незамедлительно после приготовления пробы, так как он быстро разрушается, час-

тично превращаясь в карбендазим. Пробы для определения карбендазима допускается хранить в холодильнике только после очистки в системе несмешивающихся растворителей.

9.2. Условия хроматографирования

Ультраэффективный жидкостный хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм. Температура колонки (30 ± 1) °С.

Тиофанат-метил. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 30 : 70. Скорость потока элюента: 0,2 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора: 265 нм. Объем вводимой пробы: 10 $мм^3$. Время удерживания тиофанат-метила: (5,9 ± 0,1) мин.

Карбендазим. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,05 %-й трифторуксусной кислоты в соотношении 10 : 90. Скорость потока элюента: 0,2 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора: 281 нм. Объем вводимой пробы: 10 $мм^3$. Время удерживания карбендазима: (4,3 ± 0,1) мин.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание тиофанат-метила или карбендазима в пробе (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot K \cdot V}{P} \cdot \frac{100}{f}, \text{ где}$$

S_x – площадь пика тиаофанат-метила или карбендазима на хроматограмме испытуемого образца, $мм^2$ (AU);

K – градуировочный коэффициент, найденный на стадии построения соответствующей градуировочной зависимости;

V – объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, $см^3$;

P – навеска анализируемого образца, г;

f – полнота извлечения определяемого вещества, приведенная в табл. 2, %.

Содержание остаточных количеств определяемого вещества в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор тиофанат-метила или карбендазима с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

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;

r – значение предела повторяемости ($r = 2{,}8\sigma_r$).

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

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

«*содержание вещества в пробе менее нижней границы определения*» (например: менее 0,1 мг/кг*, где * – 0,1 мг/кг – предел обнаружения тиофанат-метила в зерне).

13. Контроль качества результатов измерений

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

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm\Delta_{л,X}$ ($\pm\Delta_{л,X'}$) – 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:

$$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta, \text{ где}$$

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = X' - X - C_д, \text{ где}$$

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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 к их устранению.

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

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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

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

Разработаны сотрудниками «Всероссийского НИИ защиты растений», С.-Петербург (Долженко В. И., Цибульская И. А., Черменская Т. Д., Комарова А. С.).

gost.e-ecolog.ru