Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств этаметсульфурон-метила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3102—13

Издание официальное

Москва • 2013

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 этаметсульфурон-метила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3102—13

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств этаметсульфуронметила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—23 с.

ISBN 978—5—7508—1217—2

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

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 30 мая 2013 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 8 августа 2013 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1217—2

© Роспотребнадзор, 2013
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
8 августа 2013 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств этаметсульфурон-метила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3102—13

Свидетельство о метрологической аттестации от 4.10.2012 № 01.00282-2008/0138.04.10.12.

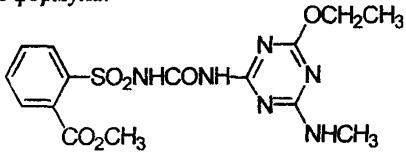
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств этаметсульфурон-метила в семенах и масле подсолнечника в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: этаметсульфурон-метил.

Название действующего вещества по ИЮПАК: метил-2-[(4-этокси-6-метиламино-1,3,5-триазин-2-ил)карбамоилсульфамоил]бензоат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{18}N_6O_6S$.

Молекулярная масса: 410,4.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: белый, без запаха.

Давление паров: $7{,}73 \times 10^{-10}$ мПа (при 25 °С).

Коэффициент распределения октанол–вода: K_{ow} logP 0,89 (pH 7), 1,558 (pH 5).

Температура плавления: 194 °С.

Растворимость в воде (мг/дм^3, 25 °С): 1,7 (pH 5), 50 (pH 7), 410 (pH 9).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С): ацетон – 1,6; ацетонитрил – 0,83, дихлорметан – 3,9; метанол – 0,35; этанол – 0,17; этилацетат – 0,68.

Константа диссоциации (pKa) (при 25 °С): 4,6 (слабая кислота).

Стабилен при pH 7 и pH 9.

Подвергается гидролизу, T_{50} составляет при pH 5 – 41 день.

Краткая токсикологическая характеристика

Этаметсульфурон-метил относится к веществам мало опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 5 000 мг/кг) и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг), но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 5 700 мг/м^3). Не раздражает кожу и слабо раздражает слизистую оболочку глаз. Онкогенные, мутагенные, тератогенные свойства этаметсульфурон-метила не выявлены.

Область применения

Этаметсульфурон-метил – послевсходовый гербицид системного действия, проникающий преимущественно через листья растений и ингибирующий фермент ацетолактатсинтазу. Подавляет развитие однолетних и многолетних двудольных сорняков в посевах рапса с нормой расхода 15—30 г д.в./га.

В России проходит регистрационные испытания в качестве гербицида в посевах ярового и озимого рапса с нормой расхода 25 г/га.

В России гигиенические нормативы не установлены.

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.

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

Таблица 1

Метрологические параметры для этаметсульфурон-метила

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ± δ, % ($P = 0,95$)	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %	Норматив оперативного контроля точности, K, мг/кг ($P = 0,95$, $m = 2$)
Семена подсолнечника	0,02—0,1 вкл.	50	1,36	3,78	5,29	$0,59 \cdot X^*$
	0,1—0,2 вкл.	25	2,21	6,14	8,60	$0,30 \cdot X^*$
Масло подсолнечника	0,02—0,1 вкл.	50	1,49	4,14	5,80	$0,59 \cdot X^*$
	0,1—0,2 вкл.	25	1,54	4,28	5,99	$0,30 \cdot X^*$

* X – среднее значение массовой концентрации этаметсульфурон-метила в пробе (мг/кг).

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для этаметсульфурон-метила

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Семена подсолнечника	0,02	0,02—0,2	72,83	1,54	0,72
Масло подсолнечника	0,02	0,02—0,2	75,54	1,17	0,55

2. Метод измерений

Метод основан на определении этаметсульфурон-метила с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов семян органическим растворителем, а из образцов масла – буфером, дальнейшей очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на концентрирующих патронах № 1.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 100 $мм^3$ со шкалой деления 0,001 $см^3$ и погрешностью менее 1 % от номинального объема	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
pH-метр/милливольтметр с диапазоном измерения 0...14 pH; ± 1 999 мВ	
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу; – 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

Этаметсульфурон-метил, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,9 %	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Аммоний уксусно-кислый (аммония ацетат) безводный, 98 %	
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный	ТУ-51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцово-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Калий фосфорно-кислый двузамещённый, 3-водный, чда	ГОСТ 2493—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61—75
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции со слабоосновным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм с привитыми аминогруппами (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 1)	ТУ 4215-002-05451931—94
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, кислый, хч	ГОСТ 4201—79
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Натрия гидроокись, хч	ГОСТ 4328—77
Спирт метиловый (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Этилацетат, чда	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, максимальной загрузкой 10 кг, амплитудой	

колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и 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, 1 000 и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс., избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин	
Предколонка хроматографическая стальная длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С8	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—500 $см^3$	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
Фильтры для очистки растворителей диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм	
Центрифуга лабораторная, настольная с максимальным рабочим числом оборотов 4 000 об./мин, рабочим объемом ротора 200 $см^3$ × 4 ячейки, выбираемый временной диапазон работы от 0 до 100 мин и набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$	
Шприц инъекционный однократного применения объемом 10 $см^3$	ГОСТ Р ИСО 7886-1—09

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 нормы, установленные 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 выполнению определений

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

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, 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 ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. 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.

7.1.3. 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.

7.1.4. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают равным объемом 5 %-го раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 ч. Затем этилацетат сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Этилацетат перегоняют при температуре 77,1 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 77,1 °С, отбрасывают.

7.1.5. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5 %-го раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 ч. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Хлористый метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил, 0,01 М водный раствор уксусной кислоты и спирт метиловый.

В плоскодонную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 350 см^3 ацетонитрила, 50 см^3 метанола и 550 см^3 0,01 М водного раствора уксусной кислоты. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см^3/мин в течение 5 мин, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 мин.

7.2.2. Приготовление рабочих растворов

7.2.2.1. *Приготовление 0,01 М водного раствора уксусной кислоты.*

В мерную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 500 см^3 очищенной воды и 600 мг ледяной уксусной кислоты, перемешивают, доводят водой

объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой). Раствор используют для приготовления подвижной фазы. Раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.2.2. *Приготовление 0,01 М водного раствора аммония уксусно-кислого.*

В мерную колбу объемом 1 000 $см^3$ переносят 700 мг аммония уксусно-кислого, добавляют 500 $см^3$ очищенной воды и перемешивают до полного растворения соли. Доводят водой объем в колбе до метки и еще раз тщательно перемешивают. Раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.2.3. *Приготовление 6 М раствора соляной кислоты.*

Мерным цилиндром отбирают 246 $см^3$ концентрированной соляной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 500 $см^3$, куда предварительно наливают около 100 $см^3$ дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой). Раствор хранят не более 6 месяцев при комнатной температуре.

7.2.2.4. *Приготовление 0,05 М раствора двузамещенного фосфорно-кислого калия.*

В мерную колбу на 500 $см^3$ переносят 5,7 г калия фосфорно-кислого двузамещенного 3-водного и 50 г натрия хлористого, добавляют 200—300 $см^3$ бидистиллированной воды, перемешивают до полного растворения солей, проверяют pH полученного раствора. Если pH раствора менее 9, доводят его до указанного значения с помощью 1 М раствора гидроокиси натрия, контролируя pH. После достижения нужного значения pH объем доводят водой до метки. Раствор хранят не более 3 месяцев при комнатной температуре.

7.2.2.5. *Приготовление раствора для разведения проб и приготовления стандартных растворов.*

Мерным цилиндром отмеряют 15 $см^3$ ацетонитрила и помещают в плоскодонную колбу объемом 100 $см^3$. Туда же помещают 85 $см^3$ 0,01 М водного раствора аммония уксусно-кислого. Смесь тщательно перемешивают и используют для приготовления стандартных растворов для хроматографирования и растворения проб перед хроматографированием. Раствор хранят не более 2 недель при комнатной температуре.

7.2.3. Приготовление градуировочных растворов

7.2.3.1. *Стандартный раствор № 1 с концентрацией этаметсульфурон-метила 100,0 мкг/$см^3$.*

Взвешивают 10 мг этаметсульфурон-метила в мерной колбе объемом 100 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартного раствора. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 3 месяцев.

7.2.3.2. *Стандартный раствор № 2 с концентрацией этаметсульфурон-метила 10,0 мкг/см^3.*

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.3. *Стандартный раствор № 3 с концентрацией этаметсульфурон-метила 1,0 мкг/см^3.*

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.4. *Стандартный раствор № 4 с концентрацией этаметсульфурон-метила 0,5 мкг/см^3.*

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.5. *Стандартный раствор № 5 с концентрацией этаметсульфурон-метила 0,2 мкг/см^3.*

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.6. *Стандартный раствор № 6 с концентрацией этаметсульфурон-метила 0,1 мкг/см^3.*

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки смесью аце-

тонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85. Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.7. *Стандартный раствор № 3 с концентрацией этаметсульфурон-метила 1,0 мкг/см^3 (в ацетонитриле).*

Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 3 используется для изучения хроматографического поведения этаметсульфурон-метила на концентрирующих патронах № 1. Стандартный раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.3.8. *Стандартные растворы этаметсульфурон-метила в ацетоне с концентрацией 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 для внесения в образцы.*

Из стандартного раствора № 2 методом последовательного разведения ацетоном готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы. Растворы готовят непосредственно перед внесением в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации этаметсульфурон-метила в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения этаметсульфурон-метила на них

7.4.1. 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.

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

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 $см^3$ этилацетата. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения этаметсульфурон-метила на концентрирующих патронах № 1

Из стандартного раствора этаметсульфурон-метила в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 100 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 $см^3$.

Исходный концентратор обмывают последовательно двумя порциями по 10 $см^3$ этилацетата, затем 5 $см^3$ 0,1 %-й уксусной кислоты в этилацетате и 10 $см^3$ 2 %-й уксусной кислоты в этилацетате, наносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции собирают в концентратор объемом по 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие этаметсульфурон-метил, полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения этаметсульфурон-метила на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов.

7.5. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку с предколонкой устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1 $см^3$/мин 3—4 ч.

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 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 22391—89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ Р 52465—05 «Масло подсолнечное. ТУ», ГОСТ Р

52062—03 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб».

Отобранные пробы семян подсолнечника подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы подсолнечного масла хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 10 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Семена подсолнечника

9.1.1. Экстракция

Образец измельченных семян подсолнечника массой 10 г помещают в банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, прибавляют 75 $см^3$ ацетона и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну и на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. После экстракции пробу центрифугируют 5 мин при скорости 4 000 об./мин. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 $см^3$ через фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют еще раз, используя 75 $см^3$ ацетона и помещая на 5 мин в ультразвуковую ванну и на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Пробы центрифугируют, фильтруют, экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, упаривают до маслянистого остатка при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, прибавляют 3 $см^3$ ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, прибавляют туда же 50 $см^3$ 0,05 М щелочного буфера (pH 9) и переносят раствор в делительную воронку. Водный экстракт промывают двумя порциями гексана по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний (водный) слой собирают в химический стакан объемом 100 $см^3$, а верхний (гексановый) слой отбрасывают. Водную фазу возвращают в делительную воронку и промывают двумя порциями хлористого метилена по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний (метиленовый) слой отбрасывают.

Водный остаток подкисляют 6 М соляной кислотой до pH 3 и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Этаметсульфурон-метил экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 $см^3$,

каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) объединяют в концентраторе объемом 250 см^3, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 5 см^3 этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, и вносят на предварительно кондиционированный патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают последовательно двумя порциями по 10 см^3 этилацетата и одной порцией объемом 5 см^3 0,1 %-й уксусной кислоты в этилацетате и вносят на патрон, элюаты отбрасывают. Этаметсульфурон-метил элюируют 10 см^3 2 %-й уксусной кислоты в этилацетате. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85 и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.2. Масло подсолнечника

9.2.1. Экстракция и очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Из пробы подсолнечного масла отбирают в стакан навеску массой 10 г и переносят ее в делительную воронку объемом 250 см^3 тремя порциями гексана объемом по 30 см^3. Этаметсульфурон-метил экстрагируют четырьмя порциями по 30 см^3 0,05 М щелочного буфера (pH 9), каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин.

После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой с небольшим количеством эмульсии объединяют к конической колбе объемом 250 см^3. После четвертой экстракции верхний гексановый слой отбрасывают, а объединенный водный экстракт возвращают в делительную воронку и выдерживают 5 мин. Затем нижний (водный) слой фильтруют через фильтр средней плотности в чистую делительную воронку объемом 250 см^3.

Водный экстракт промывают двумя порциями гексана по 30 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний (водный) слой собирают в химический стакан объемом 100 см^3, а верхний (гексановый) слой отбрасывают. Водную фазу возвращают в делительную воронку и промы-

вают двумя порциями хлористого метилена по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний (метиленовый) слой отбрасывают.

Водный остаток подкисляют 6 М соляной кислотой до pH 3 и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Этаметсульфурон-метил экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.3 «Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1».

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси ацетонитрила с 0,01 М раствором уксусно-кислого аммония в соотношении 15 : 85 и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу;

– 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 стальная длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Предколонка хроматографическая стальная, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С8.

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–метанол–0,01 М уксусная кислота в соотношении 35 : 5 : 55.

Длина волны: 240 нм.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

10. Обработка результатов

Содержание этаметсульфурон-метила в пробах рассчитывают по формуле:

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

X – содержание этаметсульфурон-метила в пробе, мг/кг;
$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;
$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мм;
A – концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;
V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;
m – масса анализируемого образца, г (см^3);
P – содержание этаметсульфурон-метила в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

δ – 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 0,02 мг/кг*»*.

* 0,02 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 этаметсульфурон-метила проводят в начале и окончании каждой серии анализов, а также при смене: основного градуировочного раствора № 1 – каждые три месяца, основных градуировочных растворов № 2, 3, 4, 5 и 6 – каждый месяц.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание этаметсульфурон-метила в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,1 до 1,0 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \leq 2{,}52, \text{ где}$$

X – концентрация этаметсульфурон-метила контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора этаметсульфурон-метила в смеси ацетонитрила с 0,01 М раствором уксуснокислого аммония в соотношении 15 : 85, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

2,52 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 2,52 %, 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 этаметсульфурон-метила, 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:

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

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

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

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, приво-

дящие 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 предел воспроизводимости (R):

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

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 этаметсульфурон-метила из семян и масла подсолнечника (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено этаметсульфурон-метила, мг/кг	Обнаружено этаметсульфурон-метила, мг/кг	Полнота определения, %
Семена подсолнечника	0,02	0,0147± 0,0002	73,5
	0,04	0,0296 ± 0,0005	74,1
	0,10	0,0725 ± 0,0020	72,5
	0,20	0,1424 ± 0,0024	71,2
Масло подсолнечника	0,02	0,0153 ± 0,0003	76,6
	0,04	0,0299 ± 0,0004	74,9
	0,10	0,0757 ± 0,0013	75,7
	0,20	0,1501 ± 0,0029	75,0

Определение остаточных количеств этаметсульфурон-метила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3102—13

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

Подписано в печать 19.12.13

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5
Тираж 200 экз. Заказ 93

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