Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

**Сборник методических указаний
по методам контроля
МУК 4.1.2907—11; 4.1.2923—4.1.2925—11;
4.1.2938—11**

Издание официальное

Москва • 2011

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 сельскохозяйственном сырье, пищевых продуктах и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2907—11; 4.1.2923—4.1.2925—11; 4.1.2938—11

ББК 51.21+51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственном сырье, пищевых продуктах и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—70 с.

ISBN 978—5—7508—1025—3

1. Разработаны сотрудниками ГНУ Всероссийского НИИ защиты растений Россельхозакадемии.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 2.06.2011 № 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 12 июля 2011 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

ISBN 978—5—7508—1025—3

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

Определение остаточных количеств прогексадиона-кальция в воде, почве, плодах и соке яблок методом методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2907—11 4

Определение остаточных количеств имидаклоприда в моркови, луке, горохе, зерне и соломе риса, зерне и масле сои, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2923—11 17

Определение остаточных количеств изопротурона и дифлюфеникана в воде, почве, зерне и соломе зерновых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2924—11 30

Определение остаточных количеств фенпироксимата в зеленой массе, зерне и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2925—11 45

Определение остаточных количеств бифентрина в капусте, зерне гороха, сои и соевом масле методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2938—11 57

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
12 июля 2011 г.
Дата введения: с момента утверждения

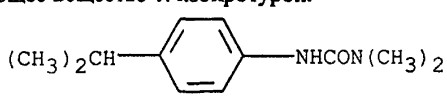
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств изопротурона и дифлюфеникана в воде, почве, зерне и соломе зерновых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2924—11

Настоящий документ устанавливает методику измерения массовых концентраций изопротурона в воде водоемов в диапазоне концентраций 0,001—0,01мг/дм^3, в зерне в диапазоне 0,005—0,1 мг/кг, в почве – 0,01—0,1 мг/кг, дифлюфеникана в воде водоемов в диапазоне концентраций 0,001—0,01 мг/дм^3, в зерне и почве в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг, изопротурона и дифлюфеникана в соломе зерновых в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг.

Действующее вещество 1: изопротурон.



3-(4-изопропил)-1,1-диметилмочевина (IUPAC).

Брутто формула: $C_{12}H_{18}N_2O$.

Молекулярная масса: 206,3.

Химически чистое вещество представляет собой белый кристаллический порошок.

Температура плавления: 158 °С.

Давление пара 3,15 · 10^{-} мРа (20 °С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода: K_{ow} lgP = = 2,5 (20 °С).

Растворимость в воде (мг/дм^3, 22 °С): 65.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С) в метаноле – 75, дихлорметане – 63, ацетоне – 38, бензоле – 5, ксилоле – 4, н-гексане – 0,2.

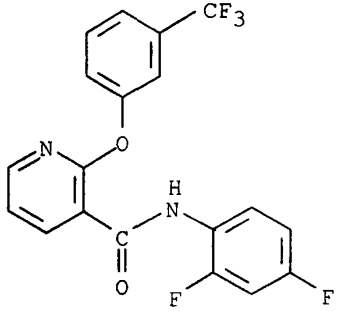
Очень стабилен к воздействию света, кислот и щелочей. Гидролизуется при нагревании в концентрированной щелочи.

Краткая токсикологическая характеристика: острая оральная токсичность LD_{50} – 1 826—2 417 мг/кг (крысы), 3 350 мг/кг (мыши). При подкожном введении LD_{50} для крыс более 2 000 мг/кг. Ингаляционная токсичность для крыс LC_{50} превышает 1,95 мг/дм^3 (период наблюдения 4 ч). Не раздражает кожу и слизистую глаз у кроликов.

Область применения: селективный системный гербицид, адсорбируемый корнями и листьями растений. Используется для контроля до и после появления однолетних трав и многолетних широколиственных сорняков на озимых и яровых посевах пшеницы, ржи и ячменя с нормой расхода 1,0—1,5 кг/га.

В России для изопротурона установлены следующие *гигиенические нормативы*: ДСД – 0,006 мг/кг/сут.; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,8 мг/м^3; ОДК в воде водоемов – 0,09 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,05 мг/кг; МДУ в зерне хлебных злаков – 0,01 мг/кг.

Действующее вещество 2: дифлюфеникан.



2',4'-дифтор-2(α,α,α-трифтор-м-толилокси)никотинанилид (IUPAC).
Брутто формула: $C_{19}H_{11}F_5N_2O_2$.
Молекулярная масса: 394,3.

Химически чистое вещество представляет собой белый кристаллический порошок.

Температура плавления: 159—161 °С.

Давление пара $4{,}25 \cdot 10^{-3}$ мРа (25 °С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода: K_{ow} lgP = = 4,9 (20 °С).

Растворимость в воде (мг/дм^3, 25 °С): < 0,05.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С) в ацетоне и диметилформамиде – 100, ацетофеноне и циклогексаноне – 50, изофороне – 35, ксилоле – 20, циклогексане – 2, керосине – менее 10.

На воздухе стабилен вплоть до температуры плавления. При 22 °С очень стабилен в водных растворах при pH 5, 7 и 9. Достаточно устойчив к фотолизу.

Краткая токсикологическая характеристика: острая оральная токсичность LD_{50} более 2 000 мг/кг (крысы), более 1 000 мг/кг (мыши), более 5 000 мг/кг (кролики). Ингаляционная токсичность для крыс LC_{50} более 2,34 мг/дм^3 (период наблюдения 4 ч). Не раздражает кожу и слизистую глаз у кроликов.

Область применения: гербицид, используемый для постобработки осенних посевов с целью контроля трав и широколистных сорняков. Обычно применяется в комбинации с изопротуроном или другими гербицидами хлебных злаков. Норма расхода 125—250 г/га.

В России для дифлюфеникана установлены следующие *гигиенические нормативы*: ДСД – 0,01 мг/кг/сут.; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,6 мг/м^3; ОДУ в воде водоемов – 0,15 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,05 мг/кг; МДУ в зерне хлебных злаков – 0,05 мг/кг.

1. Метрологическая характеристика метода

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

Диапазон измерений, массовая концентрация	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель промежуточной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение в условиях вариации факторов «время», «оператор» в одной лаборатории), $\sigma_{R_л}$, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель точности* (границы относительной погрешности при вероятности $P = 0,95$), $\pm\delta$, %
Изопротурон				
Вода, мг/дм^3 от 0,001 до 0,01 вкл.	7	8	10	19
Почва, мг/кг от 0,01 до 0,1 вкл.	9	11	13	25
Зерно, мг/кг от 0,005 до 0,05 вкл. св. 0,05 до 0,1 вкл.	8 6,5	9 7	11 9	22 18
Солома, мг/кг от 0,02 до 0,1 вкл. св. 0,1 до 0,2 вкл.	6,5 5	7 6	9 7	18 14
Дифлюфеникан				
Вода, мг/дм^3 от 0,001 до 0,01 вкл.	6	7	8	16
Почва, мг/кг от 0,01 до 0,1 вкл.	7,5	9	11	21
Зерно, мг/кг от 0,01 до 0,1 вкл.	7,5	9	11	21
Солома, мг/кг от 0,02 до 0,1 вкл. св. 0,1 до 0,2 вкл.	7,2 6	8 7	10 8	20 16
*) соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$				

Таблица 2

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

Аналит	Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг ($мг/дм^3$)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг ($мг/дм^3$)	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Изопротурон	Вода	0,001	0,001—0,01	91,8	8,2	3,8
	Почва	0,01	0,01—0,1	89,2	13,0	6,1
	Зерно	0,005	0,005—0,1	90,5	10,5	4,9
	Солома	0,02	0,02—0,2	95,9	6,8	3,2
Дифлюфеникан	Вода	0,001	0,001—0,01	89,1	2,3	1,1
	Почва	0,01	0,01—0,1	84,9	9,9	4,7
	Зерно	0,01	0,01—0,1	88,5	9,4	4,4
	Солома	0,02	0,02—0,2	82,1	8,3	3,9

2. Метод измерения

Методика основана на определении изопротурона и дифлюфеникана методом ВЭЖХ с использованием УФ-детектора после их экстракции из образцов смесью ацетона с водой и очистки экстракта методом последовательной твердофазной экстракции на патронах Диапак С16 и Силикагель 60.

Идентификация изопротурона и дифлуфеникана проводится по времени удерживания, количественное определение – методом 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 «ACQUITY» фирмы «Waters» с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки

Весы аналитические ВЛА-200 ГОСТ 24104—2001

Весы технические ВЛКТ-500	ГОСТ 24104—2001
Колбы мерные на 10, 100, 1 000 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микродозаторы Ленпипет переменного объема от 200 до 1 000 $мм^3$ и от 1 до 5 $см^3$, вид климатического исполнения УХЛЧ.2	ГОСТ 50444
Пипетки градуированные	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные на 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Ацетон, чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для ВЭЖХ, «В-230НМ» или хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—79
Гексан, хч	ТУ 2631-003-05807999—98
Дифлюфеникан с содержанием основного вещества 99,5 % (Sigma-Aldrich)	
Изопротурон с содержанием основного вещества 99,0 % (Sigma-Aldrich)	
Этилацетат, хч	ГОСТ 22300—76

Допускается использование реактивов квалификацией не ниже указанных.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка ACQUITY UPLC BEH C18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм (Waters)	
Бидистиллятор	
Баня ультразвуковая «Сапфир», УЗВ-1,3	ГОСТ Р МЭК 60335-2-15—98
Вакуумный манипулятор для работы с патронами для твердофазной экстракции (Waters, кат. № WAT 200677)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки лабораторные В-75-110	ГОСТ 25336—82
Колба Бунзена	ГОСТ 5614—75
Колбы круглодонные на шлифах КШ50 14/23 ТС	ГОСТ 10384—72
Колбы круглодонные на шлифах КШ250 29/32 ТС	ГОСТ 10384—72
Колбы плоскодонные на шлифах КШ 250 29/32 ТС	ГОСТ 25336—82
Мельница ножевая РМ -120 и лабораторная зерновая ЛМЗ	ТУ 1-01-0593—79

Патроны Диапак С16 (БиоХимМак), 0,4 г ТУ 4215-002-05451931—94
Патроны, заполненные силикагелем 60 (Merck), 0,5 г
Ротационный вакуумный испаритель фирмы BÜCHI, мод. R 205 (Швейцария)
Фильтры бумажные «красная лента» ТУ 6.091678—86

Допускается использование другого вспомогательного оборудования с техническими характеристиками не хуже указанных.

4. Требования безопасности

4.1. При проведении работы необходимо соблюдать требования техники безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1.005, 12.1.007). Организация обучения работников безопасности труда по ГОСТ 12.0.004.

При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкциями по эксплуатации приборов.

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. 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».

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 колонку (Acquity BEH C18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,1—0,2 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. *0,005 М раствор ортофосфорной кислоты*: (0,5 ± 0,01) г 98 % ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.2.2. *Для приготовления подвижной фазы 1* смешивают ацетонитрил с 0,005 М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 40 : 60 по объему, используя мерные цилиндры.

7.2.3. *Для приготовления подвижной фазы 2* смешивают ацетонитрил с 0,005 М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 65 : 35 по объему, используя мерные цилиндры.

7.2.4. *Приготовление элюентов для твердофазной экстракции.*

Элюент 1. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 5 $см^3$ этилацетата и доводят объем до метки гексаном. Перемешивают. Элюент хранят в вытяжном шкафу и используют свежеприготовленным.

Элюент 2. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 20 $см^3$ этилацетата и доводят объем до метки гексаном. Перемешивают. Элюент хранят в вытяжном шкафу и используют свежеприготовленным.

Элюент 3. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 50 $см^3$ этилацетата и доводят объем до метки гексаном. Перемешивают. Элюент хранят в вытяжном шкафу и используют свежеприготовленным.

7.3. Приготовление основных и градуировочных растворов

7.3.1. *Основные растворы 1 и 2 с концентрацией 0,5 мг/$см^3$*: точные навески изопротурона и дифлуфеникана (50 ± 0,5) мг помещают в мерные колбы вместимостью 100 $см^3$, растворяют в ацетонитриле и доводят объемы до метки тем же растворителем.

Градуировочные растворы изопротурона и дифлуфеникана с концентрациями 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 0,75 и 1,0 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления основных растворов 1 и 2 по объему, используя соответственно подвижные фазы 1 и 2.

7.3.2. *Раствор № 1 с концентрацией изопротурона 1,0 мкг/$см^3$*: в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,2 $см^3$ основного раствора 1 и доводят объем до метки подвижной фазой 1.

7.3.3. *Раствор № 2 с концентрацией изопротурона 0,75 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 7,5 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой 1.

7.3.4. *Раствор № 3 с концентрацией изопротурона 0,5 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой 1.

7.3.5. *Раствор № 4 с концентрацией изопротурона 0,2 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2,0 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой 1.

7.3.6. *Раствор № 5 с концентрацией изопротурона 0,1 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1 см^3 раствора №1 и доводят объем до метки подвижной фазой 1.

7.3.7. *Раствор № 6 с концентрацией изопротурона 0,05 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой 1.

7.3.8. *Раствор № 7 с концентрацией дифлюфеникана 1,0 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,2 см^3 основного раствора 2 и доводят объем до метки подвижной фазой 2.

7.3.9. *Раствор № 8 с концентрацией дифлюфеникана 0,75 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 7,5 см^3 раствора 6 и доводят объем до метки подвижной фазой 2.

7.3.10. *Раствор № 9 с концентрацией дифлюфеникана 0,5 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 5,0 см^3 раствора 6 и доводят объем до метки подвижной фазой 2.

7.3.11. *Раствор № 10 с концентрацией дифлюфеникана 0,2 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 2,0 см^3 раствора 6 и доводят объем до метки подвижной фазой 2.

7.3.12. *Раствор № 11 с концентрацией дифлюфеникана 0,1 мкг/см^3*: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 вносят 1,0 см^3 раствора 6 и доводят объем до метки подвижной фазой 2.

Основные растворы 1 и 2 можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты определения изопротурона и дифлуфеникана в почве, зерне и соломе зерновых используют ацетонитрильные растворы веществ. Растворы с концентрациями аналитов 1,0 и 10,0 мкг/см^3 готовят из основных растворов 1 и 2 с концентрациями изопротурона и дифлюфеникана 0,5 мг/см^3 методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

7.4. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочных характеристик (площадь пика – концентрация изопротурона или дифлуфеникана в растворах) 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 изопротурона или дифлуфеникана в градуировочных растворах.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочные коэффициенты (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 изопротурона или дифлуфеникана в градуировочном растворе в мг/см^3,

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации изопротурона или дифлуфеникана в градуировочном растворе в мг/см^3,

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

7.5. Подготовка патронов для твердофазной экстракции

Диапак С16: Непосредственно перед употреблением в два последовательно соединенных патрона вносят сначала 1 см^3 ацетонитрила, а затем 1 см^3 воды.

Патрон Силикагель 60: Непосредственно перед употреблением через патрон пропускают 2 см^3 гексана.

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 Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб»; ГОСТ Р 50436—92 (ИСО 950—79) «Зерновые. Отбор проб зерна»; ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб». Пробы зерна и соломы для определения остатков в урожае хранят в бумажной или тканевой упаковке при комнатной температуре. Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Перед анализом сухую почву доводят до стандартной влажности, просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, зерно и солому измельчают на лабораторных мельницах.

9. Проведение определения

9.1. Определение изопротурона и дифлюфеникана в воде водоемов

Две аликвоты воды по 50 $см^3$ пропускают отдельно через патроны Диапак С16. Фильтраты отбрасывают. Через каждый патрон пропускают 3 $см^3$ ацетонитрила. Элюаты 1 и 2 собирают по отдельности и упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток 1 растворяют в 0,5 $см^3$ подвижной фазы 1, а сухой остаток 2 – в 0,5 $см^3$ подвижной фазы 2. Первый раствор (10 $мм^3$) вводят в жидкостный хроматограф для определения изопротурона в соответствующих условиях хроматографирования (см. п. 9.3). Второй раствор хроматографируют в условиях соответствующих анализу дифлюфеникана.

9.2. Определение изопротурона и дифлюфеникана в почве, зерне и соломе зерновых

По (20 ± 0,1) г почвы или измельченного на лабораторной мельнице зерна или (5 ± 0,1) г нарезанной ножом соломы помещают в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, прибавляют 10 $см^3$ воды и, спустя 2—3 мин, 40 $см^3$ ацетона. Экстрагируют на ультразвуковой бане в течение 10 мин. Массу фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» на воронке Бюхнера. Экстракцию повторяют, используя в качестве экстрагента 50 $см^3$ смеси ацетона и воды в соотношении 4 : 1. Объединенный экстракт упаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С до полного удаления ацетона. Вод-

ный остаток (около 20 см^3) фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» и пропускают через два, соединенных последовательно и откондиционированных по п. 7.5 патрона Диапак С16. Фильтрат отбрасывают. Изопротурон и дифлюфеникан элюируют 4 см^3 ацетона. Элюат упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С, сухой остаток растворяют в 2,0 см^3 гексана и количественно переносят в патрон Силикагель 60, откондиционированный гексаном по п. 7.5. Фильтрат отбрасывают. Патрон промывают двумя порциями по 2 см^3 гексана и 2 см^3 элюента 1. Промывки отбрасывают. Дифлюфеникан элюируют 5 см^3 элюента 2 и собирают элюат 1 в отдельную колбу. Патрон промывают 2 см^3 элюента 3. Промывку отбрасывают. Изопротурон элюируют 5 см^3 элюента 3, собирая отдельно элюат 2. Элюаты 1 и 2 упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 40 °С. Сухие остатки изопротурона в зерне и соломе растворяют в 1 см^3 подвижной фазы 1, а в почве – в 2 см^3 подвижной фазы 1. Сухие остатки дифлюфеникана в почве и зерне растворяют в 2 см^3 подвижной фазы 2, а остаток дифлюфеникана в соломе в 1 см^3 подвижной фазы 2.

9.3. Условия хроматографирования

Ультраэффективный жидкостный хроматограф «ACQUITY» фирмы Waters с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка ACQUITY UPLC BEH C18 (2,1 × 100) мм, 1,7 мкм (Waters). Температура колонки (30 ± 1) °С.

Изопротурон: Подвижная фаза 1: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 40 : 60. Скорость потока элюента: 0,2 см^3/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 240 нм. Объем вводимой пробы 10 мм^3. Время удерживания изопротурона (4,2 ± 0,1) мин.

Дифлюфеникан: Подвижная фаза 2: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 65 : 35. Скорость потока элюента: 0,2 см^3/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 285 нм. Объем вводимой пробы 10 мм^3. Время удерживания дифлюфеникана (4,7 ± 0,1) мин.

Линейные диапазоны детектирования изопротурона и дифлюфеникана сохраняются в интервале концентраций 0,01—1,0 мкг/см^3.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание изопротурона и дифлюфеникана в воде (X, мг/дм^3), в почве, зерне и соломе (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 изопротурона или дифлюфеникана на хроматограмме испытуемого образца, AU · сек (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; (воды, см^3);

f – полнота извлечения изопротурона или дифлуфеникана, приведенная в табл.2, (%).

Содержание остаточных количеств изопротурона или дифлюфеникана в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Пробы, дающие пики большие, чем стандартный раствор изопротурона или дифлюфеникана с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой 1 или 2, соответственно.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (1):

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

X_1 и 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: $(X \pm \Delta)$ *мг/кг* при вероятности $P = 0{,}95$, где

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 аналита менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

содержание изопротурона в зерне менее 0,005 мг/кг, в почве – менее 0,01 мг/кг, дифлюфеникана в пробах почвы и зерна менее 0,01 мг/кг, содержание изопротурона и дифлюфеникана в пробах воды менее 0,001 мг/дм^3, а в пробах соломы менее 0,02 мг/кг[*]

[*] *0,005 мг/кг – предел обнаружения изопротурона в зерне, 0,01 мг/кг – предел обнаружения дифлюфеникана в пробах почвы и зерна, изопротурона в пробах почвы; 0,001 мг/дм^3 – предел обнаружения изопротурона и дифлюфеникана в воде, а 0,02 мг/кг – предел обнаружения в пробах соломы.*

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится 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_K рассчитывают по формуле:

$$K_K = X' - X - C_o, \text{ где}$$

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:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,X'} + \Delta^2_{л,X}} \quad (1)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_K| \le K \quad (2)$$

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):

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

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

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

14. Разработчики

Долженко В. И., Цибульская И. А., Журкович И. К., Луговкина Н. В., Ковров Н. Г. (ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург).

Методика прошла метрологическую экспертизу (Свидетельство об аттестации № 01.5.04.679) и внесена в Федеральный реестр (ФР.1.31.2011.10036).

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

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2907—11; 4.1.2923—4.1.2925—11; 4.1.2938—11

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

Подписано в печать 21.10.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,5

Тираж 200 экз. Заказ 133

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 952-50-89

gost.e-ecolog.ru