4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2162—4.1.2176—07

Издание официальное

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О37

О37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 — 221с.

1. Сборник подготовлен Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); при участии специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 14

Тираж 100 экз.

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

Содержание

1. Определение остаточных количеств 2,4-Д в масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2162-07.....4
2. Определение остаточных количеств галоксифопа-р-метила и галоксифопа-р в воде, галоксифопа-р в почве, зеленой массе растений, клубнях картофеля, корнеплодах сахарной, кормовой и столовой свеклы, семенах и масле льна, рапса, сои, подсолнечника методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2163-07.....17
3. Определение остаточных количеств дифеноконазола в картофеле, моркови и томатах методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2164-07.....42
4. Определение остаточных количеств зета-циперметрина в семенах рапса, масле рапса (горчицы) методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2165-07.....56
5. Определение остаточных количеств ипродиона в огурцах и томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2166-07.....69
6. Определение остаточных количеств каптана и фолпета в воде, почве, каптана в яблоках, фолпета в клубнях картофеля и винограде методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2167-07.....83
7. Определение остаточных количеств клопиралида в капусте, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2168-07.....99
8. Определение остаточных количеств метамитрона в ботве и корнеплодах столовой и кормовой свеклы методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2169-07.....113
9. Определение остаточных количеств прометрина в семенах кориандра методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2170-07.....125
10. Определение остаточных количеств римсульфурона в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2171-07.....138
11. Определение остаточных количеств тау-флувалината в зерне и соломе зерновых культур, в ягодах и соке винограда, зеленой массе пастбищных трав, семенах и масле рапса, сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2172-07.....147
12. Определение остаточных количеств тиаметоксама в луке, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2173-07.....163
13. Определение остаточных количеств фамоксадона в плодах томатов, ягодах винограда, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2174-07.....178
14. Определение остаточных количеств цимоксанила в томатах, винограде, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2175-07.....198
15. Измерение концентраций 2,4 D этилгексилового эфира в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2176-07.....212

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека

Г.Г. Онищенко

« 15 » февраля 2007 г.
Дата введения: с 1 мая 2007 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ЦИМОКСАНИЛА В ТОМАТАХ, ВИНОГРАДЕ, ЗЕЛЕНОЙ МАССЕ, СЕМЕНАХ И МАСЛЕ ПОДСОЛНЕЧНИКА МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

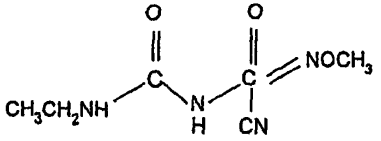
Методические указания
МУК 4.1.2135–07

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения в томатах, винограде, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника массовой концентрации Цимоксанила в диапазоне 0,1 - 1,0 мг/кг.

Цимоксанил - действующее вещество препарата Танос, ВДГ 250+250 г/кг (Цимоксамил + Фамоксадон), фирма - производитель: Дюпон, США.

Название действующего вещества по ИЮПАК: 1-(2-циано-2-метоксииминоацетил)-3-этилмочевина.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_7H_{10}N_4O_3$;

Молекулярная масса: 198,2;

Агрегатное состояние: кристаллическое вещество;

Цвет, запах: бесцветное вещество, без запаха;

Температура плавления: 160-161° С;

Летучесть (давление паров): 0,15 мПа (при 20° С);

Растворимость в воде при 20° С (pH 5): 890 мг/кг; в органических растворителях при 20°С: гексане – 0,037; толуоле – 5,29; ацетонитриле – 57; этилацетате – 28; н-октаноле – 1,43; метаноле – 22,9; ацетоне – 62,4; хлороформе – 103; дихлорметане – 133,0 г/ $дм^3$.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода при 25° С: Kow logP=0,59 (pH 5), 0,67 (pH 7).

Цимоксанил стабилен к гидролизу в интервале pH 2-5; в щелочной среде быстро гидролизуется ($ДТ_{50}$ – 148 дней при pH 5, 34 часа при pH 7, 31 минута при pH 9). В воде водоемов период полураспада составляет 1,8 дней.

В почве Цимоксанил быстро разрушается под действием микроорганизмов. В тепличных условиях период полураспада составляет около трех дней, в полевых условиях от 7 до 14 дней. Миграция по почвенному профилю слабая.

В растениях соединение быстро разрушается до нетоксичных метаболитов. Остатки Цимоксанила в клубнях картофеля не обнаруживаются. В ягодах винограда, по данным фирмы Дюпон, остатки составляли ниже 0,2 мг/кг при обработке за несколько дней до уборки.

Краткая гигиеническая характеристика:

Цимоксанил относится к умеренно опасным веществам по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс – 960 мг/кг), малоопасным по дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более 2000 мг/кг) и умеренно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ ~5060 мг/$м^3$ при 4 часовой экспозиции). Не вызывает раздражения глаз и слабо раздражает кожу. Относится к III классу опасности для человека.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД - 0,02 мг/кг массы человека.

ОДК в почве - 0,04 мг/кг.

ПДК в воде - 0,03 (органолептический) мг/$дм^3$.

МДУ в картофеле и огурцах – 0,05; ВМДУ в винограде – 0,1 мг/кг.

Область применения:

Цимоксанил – контактный фунгицид с местным системным эффектом, обладающий защитным и лечащим действием. Высокоактивен против грибов, вызывающих фитофтороз и пероноспороз, не действует на возбудителей настоящей мучнистой росы. Длительность защитного действия составляет 4-6 дней, поэтому рекомендуется его использование в смеси с другими фунгицидами системного и защитного контактного действия.

Зарегистрирован в России фирмой Дюпон под названием Танос (DPX – KP 481), ВДГ, 50% (25% Фамоксадона + 25% Цимоксанила) на картофеле с нормой расхода 0,6 кг/га, трехкратная обработка за сезон. Проходит регистрационные испытания на томатах, винограде и подсолнечнике.

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 Таблице 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1.

Метрологические параметры

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, %
Виноград	0,1-1,0	25	6,24	17	21
	0,01-0,1	50	4,79	13	16
Томаты	0,1-1,0	25	5,55	16	19
	0,01-0,1	50	5,47	15	18
Семена подсолнечника	0,10-1,0	25	4,58	13	15
Масло подсолнечника	0,10-1,0	25	3,81	11	13
Зеленая масса подсолнечника	0,10-1,0	25	3,44	10	11

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

Таблица 2.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата.

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
1	2	3	4	5	6
Виноград	0,05	0,01 – 0,1	83,3	5,8	2,26
Томаты	0,05	0,01 – 0,1	85,3	5,4	2,17
Семена подсолнечника	0,10	0,1 – 1,0	85,8	4,6	1,84
Масло подсолнечника	0,1	0,1 – 1,0	85,5	3,8	1,52
Зеленая масса подсолнечника	0,1	0,1 – 1,0	86,8	3,4	1,40

2. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Метод основан на извлечении Цимоксанила из томатов, винограда, зеленой массы и семян подсолнечника подкисленным ацетонитрилом, переэкстракции в хлористый метилен, очистке полученного экстракта от мешающих анализу веществ на колонке с Флоризилом, патронах Диапак С16 и окончательном определении Цимоксанила методом ГЖХ с использованием термоионного детектора.

Масло подсолнечника разводят гексаном, проводят переэкстракцию в ацетонитрил и далее проводят очистку проб по общей схеме.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен и может применяться для определения остатков Цимоксанила в присутствии других пестицидов. Избирательность метода достигается за счет подбора колонки и условий программирования.

3. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, РЕАКТИВЫ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА, И МАТЕРИАЛЫ.

3.1. Средства измерений.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е

Весы лабораторные технические ВЛТК-500 ГОСТ 7328;

Колбы мерные вместимостью 10, 50 и 100 $см^3$, ГОСТ 1770-74;

Микрошприц Гамильтон, вместимостью 10 $мм^3$;

Пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 $см^3$, ГОСТ 20292-74.

Хроматограф газовый «Кристалл 2000м» с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по азоту в азобензоле 5×10^{-13} $г/см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки.

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Аналитический стандарт Цимоксанила с содержанием 99,7% д.в. (фирма Дюпон);

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, х.ч., ТУ 6-09-06-1092-83;

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72;

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78;

Гелий, очищенный марки "А", ТУ-51-940-80.

Натрий сернокислый, безводный, х.ч. ГОСТ 4166-76.

Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Этилацетат, х.ч., ГОСТ 22300-76.

Флоризил для колоночной хроматографии с размером частиц 60 - 80 меш, фирма «Мерк».

Хлористый метилен, х.ч., ГОСТ 19433-88.

Стандартный раствор Цимоксанила в ацетоне- 1 мг/ $см^3$ (хранить в холодильнике, срок годности 120 суток).

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб АВУ-1, ТУ 64-1-1081-73;

Банки с крышками для экстракции на 250 $см^3$, полипропилен, кат.№3120-0250, NALGENE.

Воронки химические для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75;

Воронки делительные на 250 $см^3$, ГОСТ 10054-75;

Цилиндры мерные НР;

Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней B-480;

Концентраторы грушевидные на 100 и 250 $см^3$, НШ 29 КГУ – 100 (250) ГОСТ 10394-72.

Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая HP-5 длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирма J&W Scientific.

Насос вакуумный диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport.

Фильтры бумажные "красная лента", ТУ 6-09-2678-77.

Допускается применение хроматографических колонок и другого 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, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 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». Организация обучения работников безопасности труда - по ГОСТ 12.0.004.

5. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на газовом хроматографе.

К подготовке проб допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. УСЛОВИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20\pm5)^0$С и относительной влажности не более 80%;

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

7. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ.

7.1.Подготовка колонок и патронов для очистки экстрактов.

7.1.1. Подготовка колонки, заполненной Флоризилом, для очистки проб томатов, винограда, зеленой массы, семян и масла подсолнечника.

На дно пластиковой хроматографической колонки (высота 10 см, диаметр 1,5 см) помещают пробку из стекловаты и заполняют колонку Флоризилом на высоту 5 см.. На слой Флоризила насыпают слой безводного сернокислого натрия толщиной 1,0 см. За день до очистки экстракта колонку промывают последовательно 20 $см^3$ этилацетата и 10 $см^3$ гексана. Смывы отбрасывают. После промывки колонка готова к работе.

7.1.2. Проверка хроматографического поведения Цимоксанила на колонках с Флоризилом.

При отработке методики или поступлении новой партии Флоризила проводят изучение поведения Цимоксанила на колонке. В концентратор помещают 1 $см^3$ стандартного раствора Цимоксанила в ацетоне с концентрацией 10 мкг/ $см^3$ и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе. Далее растворяют стандарт в 1 $см^3$ этилацетата, добавляют 4 $см^3$ гексана, перемешивают содержимое концентратора и наносят на колонку.

Промывают колонку 10 $см^3$ смеси гексан: этилацетат – 4:1, смыв отбрасывают. Наносят на колонку 10 $см^3$смеси гексан: этилацетат – 1:1, смыв отбрасывают. Пропускают через колонку 20 $см^3$ смеси гексан: этилацетат – 1:4, отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюента. Каждую фракцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40°С досуха.

Сухой остаток в концентраторах растворяют в 1 $см^3$ ацетона и вводят в хроматограф 1 $мм^3$. По результатам обнаружения Цимоксанила в каждой фракции определяют объем смеси гексан:этилацетат-1:4, необходимый для полного вымывания Цимоксанила.

7.1.3. Подготовка патронов Диапак С16 для очистки проб винограда, зеленой массы, семян и масла подсолнечника.

Патрон устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$, который используют как емкость для элюента. Патрон промывают последовательно 10 $см^3$ ацетонитрила и 10 $см^3$ дистиллированной воды. Промывку проводят под вакуумом непосредственно перед очисткой экстрактов образцов со скоростью не более 2 $см^3$/мин, не допуская высыхания поверхности патрона.

7.1.4. Проверка хроматографического поведения Цимоксанила на патронах Диапак С16.

В концентратор помещают 1 $см^3$ стандартного раствора Цимоксанила в ацетоне с концентрацией 10 мкг/$см^3$ и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе. Далее растворяют стандарт в 1 $см^3$ ацетонитрила, добавляют в концентратор 10 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают содержимое и наносят на патрон. Смыв отбрасывают. Пропускают че-

рез патрон 20 $см^3$ смеси ацетонитрил : вода – 1:4, отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюента. Каждую фракцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40°С досуха.

Сухой остаток в концентраторах растворяют в 1 $см^3$ ацетона и вводят в хроматограф 1 $мм^3$. По результатам обнаружения Цимоксанила в каждой фракции определяют объем смеси ацетонитрил : вода - 1:4, необходимый для полного вымывания Цимоксанила.

7.2. Приготовление рабочих растворов

7.2.1. Приготовление 2% раствора сульфата натрия.

2 г сульфата натрия вносят в мерную колбу на 1 $дм^3$, добавляют 600-700 $см^3$ бидистиллированной воды, перемешивают до полного растворения соли и доводят водой до метки.

7.2.2. Приготовление подкисленного ацетонитрила.

В емкость, содержащую 1 $дм^3$ ацетонитрила, добавляют 10 $см^3$ 1н хлороводородной кислоты и перемешивают содержимое.

7.3. Приготовление стандартных растворов

50 мг Цимоксанила (аналитического стандарта) вносят в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, растворяют навеску в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном (стандартный раствор №1, концентрация 1 мг/$см^3$). Раствор хранится в холодильнике около 120 суток.

Методом последовательного разбавления исходного раствора №1 ацетоном готовят рабочие растворы Цимоксанила с концентрацией 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 мкг/$см^3$, которые могут храниться в холодильнике не более 30 суток.

7.4. Построение градуировочного графика

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Цимоксанила в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 мкг/$см^3$. В испаритель хроматографа вводят по 1 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. По полученным данным строят градуировочный график зависимости площади хроматографического пика в мВ от концентрации Цимоксанила в растворе в мкг/$см^3$ (рисунок 1).

8. ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

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 г., а также в соответствии с ГОСТ 1725-85 «Томаты свежие. ТУ», ГОСТ 25896-83 «Виноград свежий. ТУ», ГОСТ 22391-89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 1129-93 «Масло подсолнечника. ТУ», ГОСТ 10852-86 «Семена масличные. Правило приемки и методы отбора проб».

Пробы томатов, винограда и зеленой массы подсолнечника хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0-4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре -18°С.

Пробы семян подсолнечника подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов не более 6 месяцев. Влажные семена замораживают и хранят в морозильной камере при -18°С до 1 года.

Пробы масла подсолнечника хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0- 4°С в течение 10 суток.

9. ВЫПОЛНЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

9.1. Экстракция Цимоксанила из анализируемой пробы

9.1.1.Томаты, виноград, зеленая масса и семена подсолнечника.

Навеску 20 г (для зеленой массы и семян подсолнечника - 10 г) помещают в полипропиленовые банки объемом 250 $см^3$, заливают 50 $см^3$ подкисленного ацетонитрила и встряхивают в течение 30 мин. По окончании встряхивания экстракт фильтруют в делительную воронку емкостью 250 $см^3$ через стеклянную воронку с бумажным фильтром. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ ацетонитрила и, встряхивая смесь в течение 15 мин. Экстракты отфильтровывают в ту же делительную воронку.

Добавляют в делительную воронку 30 $см^3$ гексана и встряхивают содержимое в течение 1-2 минут. После разделения фаз нижнюю ацетонитрильную фазу сливают в стаканчик, гексан отбрасывают. Переносят экстракт из стаканчика в делительную воронку и промывают его еще раз 30 $см^3$ гексана. Ацетонитрильную фазу помещают в концентратор емкостью 250 $см^3$, добавляют в концентратор 20 $см^3$ дистиллированной воды и выпаривают до водного остатка при температуре не выше 40°С.

Водный остаток из концентратора переносят в делительную воронку емкостью 250 $см^3$. Концентратор обмывают двумя порциями по 40 $см^3$ 2% раствора сульфата натрия, смывы сливают в делительную воронку. Добавляют в делительную воронку 50 $см^3$ хлористого метилена и встряхивают содержимое воронки в течение 1-2 минут. После расслоения фаз нижний слой хлористого метилена сливают через воронку с безводным сульфатом натрия в концентратор емкостью 250 $см^3$. Повторяют переэкстракцию еще два раза, используя каждый раз по 30 $см^3$ хлористого метилена. Хлористый метилен выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40°С.

9.1.1.1. Очистка экстракта на колонке с Флорисилом.

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 1 см^3 ацетонитрила, добавляют 4 см^3 гексана, тщательно обмывают концентратор и наносят содержимое концентратора на колонку с Флорисилом, подготовленную, как указано в разделе 7.1.1. Предварительно колонку 10 см^3 смеси гексан: этилацетат – 4:1, смыв отбрасывают. Наносят на колонку 10 см^3 смеси гексан: этилацетат – 1:1, смыв отбрасывают. Пропускают через колонку 20 см^3 смеси гексан: этилацетат – 1:4, собирая элюат в концентратор емкостью 100 см^3. Содержимое концентратора выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40^{0}С досуха.

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 1 см^3 ацетона и вводят в хроматограф 1 мм^3.

Пробы винограда, зеленой массы, семян и масла подсолнечника дополнительно очищают на патронах Диапак С16.

9.1.1.2. Очистка экстракта на патроне Диапак С16.

Сухой остаток в концентраторе разводят в 1 см^3 ацетонитрила, добавляют 10 см^3 дистиллированной воды, перемешивают содержимое, обмывая стенки концентратора, и наносят на патрон.

Пропускают 15 см^3 смеси ацетонитрил: вода – 1:4, смыв собирают в концентратор и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40^{0}С досуха.

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 1 см^3 ацетона и вводят в хроматограф 1 мм^3.

9.1.2.Масло подсолнечника.

Навеску масла 10 г помещают в стеклянный стаканчик емкостью 100 см^3 и разводят в 40 см^3 гексана. Содержимое стаканчика перемешивают и переносят в делительную воронку емкостью 250 см^3. Добавляют в воронку 50 см^3 подкисленного ацетонитрила и встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой сливают в коническую колбу, а верхний слой оставляют в делительной воронке, приливают туда 50 см^3 ацетонитрила и встряхивают 2 минуты. Ацетонитрильный экстракт сливают в ту же колбу. Экстракцию повторяют еще раз тем же объемом новой порции ацетонитрила.

Объединенный ацетонитрильный экстракт переносят в чистую сухую делительную воронку, добавляют туда 30 см^3 гексана и промывают ацетонитрил, встряхивая воронку 1-2 минуты. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой сливают в стаканчик, а гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт возвращают в делительную воронку и промывают еще раз 30 см^3 гексана. После разделения фаз ацетонитрил сливают в концентратор емкостью 250 см^3, добавляют туда 20 см^3 дистиллированной воды и выпаривают содержимое концентратора до водного остатка при температуре не выше 40^{0}С.

Далее проводят переэкстракцию Цимоксанила в хлористый метилен и очистку пробы на колонках с Флоризилом и патронах Диапак С16, как указано в разделах **9.1.1, 9.1.1.1. и 9.1.1.2.**

9.2. Условия хроматографирования.

Хроматограф "Кристалл 2000м" с термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле не выше $5x10^{-13}$ или другой с аналогичными характеристиками.

Капиллярная кварцевая колонка HP-5 (95% метил-силикон + 5 % фенил-пропил-силикон), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура термостата колонки программированная: начальная температура - 100° С, нагрев колонки по 10° С в минуту до 160° С; затем нагрев колонки по 25° С в минуту до 200° С, выдержка 5 мин.

Продувка детектора и испарителя после анализа азотом – по 65 $см^3$/мин в течение 3 минут. Нагрев колонки до 280°С.

Температура испарителя – 200° С, детектора – 380° С.

Регулятор расхода гелия – РРГ-11; *режим – Нормальный.*

Газ 1 – гелий, линейная скорость – 30 см/сек, давление на входе – 35,27 кПа.

Газ 2 – гелий (продувка испарителя), расход – 0,5 $см^3$/мин; сброс 1:10.

Газ 3 – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 40 $см^3$/мин.

Расход водорода – 16 $см^3$/мин; воздуха – 200 $см^3$/мин.

Абсолютное время удерживания Цимоксанила - 6 мин 07 сек. - 6 мин 12 сек.

Объем вводимой пробы – 1 $мм^3$

Минимально детектируемое количество Цимоксанила в анализируемом объеме – 1,0 нг

Линейность детектирования сохраняется в пределах 1,0 – 10,0 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика.

Образцы, дающие пики больше, чем стандартный раствор с концентрацией Цимоксанила 10,0 мкг/$см^3$ соответственно, разбавляют.

Количественное определение Цимоксанила проводят по методу абсолютной калибровки посредством сравнения с хроматограммами стандартных растворов Цимоксанила с концентрацией 1,0 – 10,0 мкг/$см^3$.

В качестве альтернативного варианта возможно использование газового хроматографа HP6890 Series GC System, NPD (*азотно-фосфорный детектор*) с *капиллярной кварцевой* колонкой HP-1 Methyl Siloxane. Длина колонки 30 м, внутренний диаметр – 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура детектора - 320° С, температура испарителя - 200° С. Температура термостата колонки программированная: начальная температура - 100° С (выдержка 1 минута) нагрев колонки по 10 градусов в минуту до 250° С.

Газовый режим Split, газ-носитель – гелий; давление 23,78 psi, деление потока - 30:1, split поток – 59,7 $см^3$/мин. Поток через колонку 2,0 $см^3$/мин, средняя скорость – 44 см/сек. Расход водорода – 3,0 $см^3$/мин, воздуха – 60 $см^3$/мин, смещение 50 pA.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Для определения содержания Цимоксанила в пробах методом ГЖХ используют следующую формулу:

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

где **X** - содержание Цимоксанила в пробе, мг/кг;

Sст - площадь пика стандарта, мВ;

Sпр - площадь пика образца, мВ;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/$см^3$;

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

m - масса анализируемого образца, г;

P - содержание Цимоксанила в аналитическом стандарте, %.

11. ПРОВЕРКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПАРАЛЛЕЛЬНЫХ ОПРЕДЕЛЕНИЙ

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

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r \qquad (1)$$

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/кг;

r- значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\ \sigma_r$.

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

12. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности P= 0.95,

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

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * X/100$,

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

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

*«содержание вещества в пробе менее 0,05мг/кг»**

** - 0.05 мг/кг - предел обнаружения.*

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 методом добавок.*

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$,

где Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * X/100$,

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$К_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д$,

где $\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ 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 К рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

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

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

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

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

14. РАЗРАБОТЧИКИ

Калинин В.А., Калинина Т.С., Рыбакова О.И., Довгилевич Е.В. Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов».

Адрес: 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1.

Телефон: (495) 976-37-68, факс: (495) 976- 43-26.

gost.e-ecolog.ru