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. Онищенко

« 15 » февраля 2006 г.
Дата введения: с 1 мая 2007 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тиаметоксама в луке, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

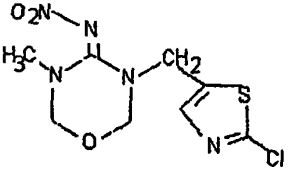
Методические указания
МУК 4.1.2173–07

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тиаметоксама в луке и ягодах винограда в диапазоне 0,05-0,5 мг/кг, в соке винограда в диапазоне 0,025-0,25 мг/кг.

Тиаметоксам – действующее вещество инсектицида Актара, ВДГ (250 г/кг), фирма производитель Сингента Кроп Протекшн АГ (Швейцария).

3-(2-хлор-тиазол-5-илметил)-5-метил-[1,3,5]оксадиазинан-4-илиден-N-нитроамин (ИЮПАК)

3-[(2-хлор-5-тиазолил) метил] тетрагидро-5-метил-N-нитро-4H-1,3,5-оксадиазин-4-имин (С.А.)



$C_8H_{10}ClN_5O_3S$

Мол. масса: 291,7

Белый кристаллический порошок без запаха. Температура плавления: 139,1 ^{0}C.

Давление паров при 25^{0}С: 6,6 х 10^{-9}Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = -0,13. Растворимость (г/л) при 25^{0}С: ацетонитрил - 78, ацетон - 42,5, дихлорметан - 43, метанол - 10,2, этилацетат - 5,7, толуол -0,6, вода - 4,1.

Вещество медленно гидролизуется в водных растворах при pH 5 и 7 (DT_{50} = более 1 года) и значительно быстрее при pH 9 (DT_{50} = 4,2 дня).

В присутствии света в водных фотолитических условиях тиаметоксам быстро деградирует с периодом полураспада 2,3 дня.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 1560 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - более 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - более 3720 мг/м^3 воздуха. Тиаметоксам не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика. LC_{50} для рыб-более 100 мг/л (96 час.).

Инсектицид нетоксичен для птиц, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов и токсичен для пчел.

Гигиенические нормативы для тиаметоксама в России: ПДК в почве – 0,2 мг/кг; ПДК в воде – 0,1 мг/дм^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,4 мг/м^3; МДУ для зерна хлебных злаков, картофеля, огурцов, гороха, капусты, свеклы сахарной и кормовой, горчицы и рапса (семена и масло) – 0,05 мг/кг, яблок, груш и смородины – 0,1 мг/кг.

Рекомендуемый норматив для тиаметоксама в ягодах и соке винограда – 0,1 мг/кг, в луке – 0,05 мг/кг.

Область применения препарата

Тиаметоксам является системным инсектицидом. Он воздействует на никотиново-ацетилхолиновый рецептор нервной системы насекомых, обладает быстрой желудочной и контактной активностью. Вещество проявляет высокую эффективность против сосущих, грызущих и почвенных насекомых на овощных, зерновых и цветочных культурах, фруктовых и цитрусовых деревьях, хлопчатнике и рисе.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ под торговым названием Актара, ВДГ (250 г тиаметоксама в 1 кг препарата). Препарат предназначен для борьбы с луковой мухой, тлями, трипсами, белокрылкой на посевах лука и виноградниках путем обработки вегетирующих растений при норме расхода до 0,8 кг/га.

1. Метрологические характеристики 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, %	Стандартное отклонение повторяемости σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Ягоды винограда	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,7	10,4	16,1
	более 0,1 до 0,5	25	2,6	7,3	11,3
Сок винограда	от 0,025 до 0,1 вкл.	50	3,3	9,2	14,4
	более 0,1 до 0,25	25	3,1	8,7	13,5
Лук	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,0	8,4	13,2
	более 0,1 до 0,5	25	3,0	8,4	13,0

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для полного диапазона концентраций (n=20) приведены в таблице 2.

Таблица 2

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

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, ±%
Ягоды винограда	0,05	0,05-0,5	85,0	3,2	±3,0
Сок винограда	0,025	0,025-0,25	85,5	3,5	±3,2
Лук	0,05	0,05-0,5	83,3	3,3	±3,1

2. Метод измерений

Методика основана на определении тиаметоксама с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Контроль тиаметоксама в образцах лука, ягод и сока винограда осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из сока хлористым метиленом, из лука и ягод водным ацетоном, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирма Knauer, Германия)	Номер Госреестра №16848-03
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 2104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Тиаметоксам, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,3% (Сингента, Швейцария)	
Ацетон, чда	ГОСТ 2603-79

Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6702
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 см^3	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена вместимостью 250 см^3	ГОСТ 5614
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 и 250 см^3	ГОСТ 9737
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см^3	ГОСТ 9737
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм	
Колонка хроматографическая, стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм) (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва)	ТУ 4215-001-05451931-94
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Патроны концентрирующие Диапак С8 (0,6 г), (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва)	ТУ 4215-002-05451931-94
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-11-917-74
Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, Германия) I степени активности	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 см^3	ГОСТ 25336
Стекловата	

Установка для перегонки растворителей

Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные ТУ 6-09-2678-77

или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа

вместимостью 100 мм^3, модель Microliter # 1710 (Hamilton,США)

Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 20 см^3 ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими веществами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной 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 жидкостном хроматографе.

К проведению пробоподготовки 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+5)^{0}С и относительной влажности не более 80%.

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление

градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют. Непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.2. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания ее в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.3. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

7.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель 60 (0,063-0,20 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130^0С в течение 5 часов.

7.2. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8 для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 20 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 $см^3$ ацетона и 30 $см^3$ смеси гексан-ацетон (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 10 $см^3$ ацетонитрила и 10 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (5:95, по объему) со скоростью 5 $см^3$/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения тиаметоксама на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора № 1 тиаметоксама с концентрацией 10 мкг/см^3 в метаноле (п. 7.6.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан-ацетон (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 40 см^3 смеси гексан-ацетон (1:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 40 см^3 смеси гексан-ацетон (4:6, по объему). Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см^3 метанола, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 3,5 см^3 подвижной фазы, подготовленной по п. 7.4., перемешивают и анализируют на содержание тиаметоксама по п.9.5.

7.4. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см^{3}помещают 330 см^3 метанола, 670 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.4.) при скорости подачи растворителя 1 см^3/мин не менее 2-х часов до установления стабильной базовой линии.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходный раствор тиаметоксама для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,010 г тиаметоксама, растворяют в 40-50 см^3 метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение 3-х месяцев.

7.6.2. Раствор тиаметоксама №1 для градуировки (концентрация 2 мкг/см^3).

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 2 см^3 исходного раствора тиаметоксама с концентрацией 100 мкг/см^3 (п.7.6.1.), разбавляют метанолом до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб лука, ягод и сока винограда с внесением при оценке полноты извлечения тиаметоксама из исследуемых образцов используют метанольный раствор тиаметоксама с концентрацией 1 мкг/см^3.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение месяца.

7.6.3. Рабочие растворы №№ 2-5 тиаметоксама для градуировки (концентрация 0,02-0,2 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 градуировочного раствора № 1 тиаметоксама с концентрацией 2 мкг/см^3 (п.7.6.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.4., тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией тиаметоксама 0.02, 0.04, 0.1 и 0.2 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мм) от концентрации тиаметоксама в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора (п.7.6.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 25896-83 «Виноград свежий столовый».

Пробы ягод и луковиц хранят в стеклянной посуде в холодильнике при температуре 4^{0}С не более 2-х дней; при длительном хранении пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18^{0}С. Сок получают из ягод непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом луковицы и ягоды измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция тиаметоксама

9.1.1. *Ягоды, луковицы.* Навеску (25 г) измельченного растительного материала помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, приливают 100 см^3 50%-ного водного ацетона и гомогенизируют 5 минут при 8000 об/мин. Раствор (с осадком) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 50%-ного водного ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/5 его часть (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2.

9.1.2. *Сок.* Навеску (10 г) свежевыжатого сока помещают в химический стакан вместимостью 100 см^3, приливают 20 см^3 деионизованной воды, 15 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия и перемешивают. Содержимое переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, приливают 30 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 250 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую фракцию, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3. и 9.4.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Отобранные аликвоты экстрактов ягод и луковиц (из пп. 9.1.1.) упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (10-15 см^3) при температуре 40^{0}С. К водному остатку приливают 15 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 15 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижнюю водную фазу собирают в делительную воронку вместимостью 100 см^3, а верхний гексановый слой отбрасывают. В воронку вносят 30 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 250 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую

фазу, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30°С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8 по пп. 9.3. и 9.4.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухие остатки в круглодонной колбе, полученные по пп. 9.1.2. и 9.2., растворяют в 0,5 см^3 ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,5 см^3 гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 5 см^3 смеси гексан-ацетон (1:1, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 35 см^3 смеси гексан-ацетон (1:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Тиаметоксам элюируют с колонки 35 см^3 смеси гексан-ацетон (4:6, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30°С.

9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак С8

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п.9.3., растворяют в 0,2 см^3 ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,8 см^3 деионизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на концентрирующий патрон Диапак С8, подготовленный по п.7.2., элюат отбрасывают. Колонку промывают 7 см^3 смеси ацетонитрил-вода (5:95, по объему), элюат отбрасывают. Тиаметоксам элюируют с патрона 3 см^3 смеси ацетонитрил-вода (2:8, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха при температуре не выше 40°С. Остаток в колбе растворяют в 1 см^3 метанола, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 1,5 см^3 подвижной фазы, подготовленной по п.7.3., перемешивают и анализируют на содержание тиаметоксама по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирма Knauer, Германия)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая в качестве неподвижной фазы Диасфер 110-С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: метанол-вода (33:67, по объему)

Скорость потока элюента: 0,7 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 255 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Время удерживания тиаметоксама: около 5 минут

Линейный диапазон детектирования 0,4 - 4 нг

Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-С8 Т (6 мкм)

Время удерживания тиаметоксама: около 4 мин 40 сек.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,2 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

10. Обработка результатов анализа

Содержание тиаметоксама рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}$$, где

X - содержание тиаметоксама в пробе, мг/кг;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_0 - высота пика стандарта, мм;

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

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

m - масса анализируемой части образца, г (для ягод и луковиц – 5 г; для сока – 10 г).

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 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;

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

менее 0.025 мг/кг для сока и менее 0,05 мг/кг ** для ягод винограда и лука*

* *0.025 мг/кг - предел обнаружения для сока.*

** *0,05 мг/кг - предел обнаружения для ягод и луковиц*

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:

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

где $\pm \Delta_{л,\overline{X}} \left(\pm \Delta_{л,\overline{X}'}\right)$ – 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:

$$К_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д,$$

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, концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

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

Талалакина Т.Н., науч. сотр; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол.наук.

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20

Подпись руки Талалакиной Т.Н., Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ (Банкович Г.Г.)

gost.e-ecolog.ru