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 КЛОПИРАЛИДА В КАПУСТЕ, СЕМЕНАХ И МАСЛЕ РАПСА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОЙ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Методические указания
МУК 4.1.2168 –07

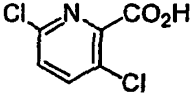
Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации Клопиралида в капусте в диапазоне 0,025 - 0,25 мг/кг; а также в семенах и масле рапса в диапазоне 0,25 - 2,5 мг/кг.

Фирма производитель: Дау АгроСаенсес;

Торговое название: Лонтрел 300, Лонтрел гранд.

Название действующего вещества по ИСО: Клопиралид.

Название по ИЮПАК: 3,6-дихлорпиридин-2-карбоновая кислота.



Эмпирическая формула: $C_8H_{10}Cl_2N_2O_3$.

Молекулярная масса: 253,1.

Агрегатное состояние: кристаллы.

Цвет, запах: без запаха и цвета.

Давление насыщенного пара 1,33 мПа при 24°С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода при 25°С: K_{ow} lgP= -1,81 (pH 5), -2,63 (pH 7), -2,55 (pH 9).

Растворимость в воде: 7.85 – в дистиллированной воде; 188 (pH 5); 143 (pH 7); 157 (pH 9) (все в г/л, при 20°С). В ацетонитриле 121, н-гексане 6, метаноле 104 (все в г/кг).

Клопиралид – сильная кислота с pKa – 2,0, в щелочном растворе образует легко растворимые соли, устойчив на свету и в кислой среде. Гидролиз: DT_{50} при pH 5-9 (25°С) в стерильной воде >30 дней.

Краткая токсикологическая характеристика: Клопиралид относится к мало опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ (крысы) 2675-3738 мг/кг), к чрезвычайно опасным веществам по ингаляционной [$ЛК_{50}$ (4 час) для крыс > 380 мг/м^3 воздуха] и к мало опасным веществам по накожной ($ЛД_{50}$ для кроликов > 2000 мг/кг) токсичности. Раздражает глаза, не раздражает кожу.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД - 0,15 мг/кг/сутки;

МДУ в капусте - 0,05; в рапсе (семена и масло) – 0,5 мг/кг.

Клопиралид - гербицид из группы производных пиколиновой кислоты системного действия, нарушает ауксиновый обмен, вызывая сильное искривление стеблей и черенков листьев. Он эффективно уничтожает однолетние и многолетние двудольные сорняки, в том числе устойчивые к 2,4-Д, главным образом из семейства сложноцветных и гречишных: ромашку, осот полевой, бодяк полевой, латук татарский, одуванчик, виды горца и др.

Производится фирмой Дау АгроСаенсес в виде водного раствора с содержанием действующего вещества 300 г/л и водно-диспергируемых гранул с содержанием действующего вещества 750 г/кг.

Зарегистрирован в России под торговым названием Лонтрел-300 и Лонтрел гранд, для борьбы со всеми видами ромашки, горца и осота. На рапсе яровом и озимом применяется с нормой расхода 90 г. д.в. на га путем опрыскивания посевов в фазе 3-4 листьев культуры, а на капусте - с нормой расхода 60-150 г д.в. на га путем опрыскивания сорняков после высадки рассады.

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 для Клопиралида

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, %
Семена рапса	0,25 – 2,5	25	3	9	11
Масло рапса	0,25 – 2,5	25	2	6	7
Капуста	0,1-0,25	25	3	9	11
	0,025-0,1 вкл.	50	2	6	7

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 для Клопиралида.

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, ±, %
Семена рапса	0,25	0,25 – 2,5	89,9	3,3	± 1,4
Масло рапса	0,25	0,25 – 2,5	80,9	2,1	± 0,8
Капуста	0,025	0,025 – 0,25	85,5	3,1	± 1,2

2. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ.

Метод основан на определении Клопиралида методом капиллярной ГЖХ с использованием детектора по захвату электронов после экстракции его из семян и масла рапса, растений капусты ацетонитрилом, подкисленным концентрированной соляной кислотой до pH=1, перезкстракции в эфир, с последующим бутилированием.

Идентификация проводится по времени удерживания. Количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается путем подбора капиллярной колонки и условий программирования температуры.

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

3.1. Средства измерений.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 24104-2001 или аналогичные.

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0.038 г, ГОСТ 19491-74.

Колбы мерные на 25, 50, 100 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Микрошприц на 10 $мм^3$, ТУ 2.833.106.

Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$, ГОСТ 20292-74.

Хроматограф газовый «Кристалл 2000м» с детектором по захвату электронов (ЭЗД) с пределом детектирования по Линдану 4×10^{-14} $г/см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки.

Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы.

Аналитический стандарт Клопиралид с содержанием 98,6 % д.в. (фирма Дау АгроСаенсес).

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон х.ч., ТУ 6-09-3513-86.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

н-Бутанол, х.ч., ГОСТ 6006-78, свежеперегнанный.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

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

Кислота серная концентрированная, ч., ГОСТ 4204-77.

Кислота соляная концентрированная, х.ч., ГОСТ 3118-77.

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

Натрия гидрокарбонат, х.ч, ГОСТ 4201-89.

Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Стандартный раствор Клопиралида 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.

Блок нагревательный для виал, Dri-Block DB-3, Tecam.

Ванна ультразвуковая "Серьга", ТУ 3.836.008.

Виалы с тефлоновыми прокладками, Aldrich, cat. № Z27,702-9.

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

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

Испаритель ротационный Rotavapor R110 Buchi с водяной баней B-480, фирма Буши;

Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 $см^3$, КПШ-100, КПШ-250, ГОСТ 10394-72.

Концентраторы грушевидные (конические) 250 $см^3$, ГОСТ 10394-72

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая HP-5, (Crosslinked 5 % фенилсилоксана и 95 % метилсилоксана), длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирмы Хьюлетт Паккард.

Насос диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport.

Мельница лабораторная электрическая, ТУ 46-22-236-84, или аналогичная.

Стаканы стеклянные на 100 $см^3$, ГОСТ 6236-72.

Фильтры бумажные "Красная лента", ТУ 6-09-1678-86.

Центрифуга MPW-350e с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$.

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 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 $(20\pm5)^0$с и относительной влажности не более 80%.

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

7. ПОДГОТОВКА К ОПРЕДЕЛЕНИЮ.

7.1. Приготовление рабочих растворов

7.1.1. Приготовление подкисленного ацетонитрила.

Раствор готовят под тягой, строго соблюдая технику безопасности.

1000 см^3 ацетонитрила наливают в стеклянную емкость объемом 1,5 дм^3. К ацетонитрилу пипеткой добавляют концентрированную соляную кислоту до pH ≈ 1.

7.1.2. Приготовление раствора для бутилирования.

Раствор готовят под тягой, строго соблюдая технику безопасности.

В мерную колбу объемом 100 см^3 осторожно приливают 2 см^3 концентрированной серной кислоты к н-бутанолу. Перемешивают раствор и доводят объем до метки бутанолом. Бутилирующую смесь хранят под тягой в течение одного месяца. Перед приготовлением раствора н-бутанол перегоняют.

7.1.3. Приготовление 4н водного раствора серной кислоты.

Раствор готовят под тягой, строго соблюдая технику безопасности.

В мерную колбу объемом 1 дм^3 наливают около 500 см^3 дистиллированной воды и осторожно приливают 112 см^3 концентрированной серной кислоты. Осторожно перемешивают раствор, добавляют воды, но не до метки. Когда раствор остынет, его доводят водой до метки.

7.1.4. Приготовление 5% раствора гидрокарбоната натрия.

В стакан на 500 $см^3$ помещают 50 гидрокарбоната натрия. Доливают около 200 $см^3$ воды и растворяют соль на ультразвуковой бане, помешивая стеклянной палочкой. Раствор переливают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$. При необходимости процедуру повторяют. Раствор в колбе доводят водой до метки.

7.1.5. Приготовление стандартных растворов.

100 мг Клопиралида (аналитического стандарта) вносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, 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 стандартный раствор № 2 с концентрацией 10,0 мкг/$см^3$, который может храниться в холодильнике не более 30 суток.

7.1.6. Приготовление стандартных растворов бутилового эфира Клопиралида.

Стандартные растворы бутилового эфира Клопиралида используют для построения градуировочного графика. Отбирают 1 $см^3$ стандартного раствора № 2 в виалу, удаляют растворитель током теплого воздуха и проводят бутилирование, как указано в разделе 9.1.2. Получают стандартный раствор № 3 бутилового эфира Клопиралида с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$ по кислоте. Из него последовательным разбавлением в гексане готовят рабочие растворы с концентрациями: 0,25; 0,1; 0,05; 0,025 мкг/$см^3$.

7.2. Построение градуировочного графика.

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа последовательно вводят по 1 $мм^3$ каждого рабочего раствора бутилового эфира Клопиралида с концентрацией по кислоте 0,25; 0,1; 0,05; 0,025 мкг/$см^3$. Проводят не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации.

По полученным данным строят градуировочный график зависимости площади хроматографического пика в мВ от концентрации Клопиралида в растворе в мкг/$см^3$. (рисунок 1).

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 г., а также в соответствии с ГОСТ 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб»,

ГОСТ 8988-77 «Масло рапсовое. ТУ», ГОСТ 1724-85 «Капуста белокочанная свежая, заготовляемая и поставляемая. ТУ».

Пробы капусты хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0-4 ^{0}С в течение до 3-х суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре -18^{0}С до 2-х лет.

Пробы семян рапса подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов в течение 1 года.

Пробы масла рапса хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0 - 4°С не более 30 дней.

Для исследовательских целей допускается получение масла в лаборатории из проб семян методом экстракции горячим растворителем при температуре не выше 40° С.

9. ПРОВЕДЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ.

9.1. Семена рапса.

9.1.1. Экстракция и очистка

Навеску размолотых семян рапса 10 г помещают в центрифужную банку объемом 250 мл, добавляют 40 см^3 подкисленного ацетонитрила и встряхивают смесь на встряхивателе в течение 45 минут. По окончании встряхивания пробу центрифугируют 10 минут при 4000 об./мин. Фильтруют экстракт в концентратор емкостью 250 см^3 через воронку с бумажным фильтром. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 см^3 подкисленного ацетонитрила, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Экстракты объединяют.

Из объединенного экстракта отбирают аликвоту 1/10 часть (10 см^3), которую выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С до капель масла.

К масляному остатку в концентраторе добавляют 5 см^3 ацетона, омывают концентратор и помещают на 5 минут на ультразвуковую ванну. В концентратор двумя порциями добавляют 100 мл воды, ополаскивают стенки концентратора и переносят в делительную воронку.

Добавляют в воронку 5 граммов хлорида натрия, растворяют его путем встряхивания. Водную фазу подкисляют 4н раствором серной кислоты до pH=1 (примерно 2 см^3), добавляют 30 мл эфира и интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоёв нижний водный слой сливают в тот же концентратор, а верхний эфирный собирают в плоскодонную колбу емкостью 100 см^3. Водную фракцию возвращают в делительную воронку,

Экстракцию повторяют ещё дважды, используя для этого каждый раз 30 см^3 эфира. После этого водную фракцию отбрасывают.

Эфирные фракции объединяют и переливают в ту же делительную воронку. К эфиру в воронку добавляют 40 см^3 5% раствора гидрокарбоната натрия, интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоев нижний слой соды собирают в плоскодонную колбу на 100 см^3. Экстракцию повторяют еще раз используя 40 см^3 раствора гидрокарбоната натрия. Эфир отбрасывают.

Объединенный содовый экстракт переносят обратно в делительную воронку, дают отстояться, отбрасывают отстоявшийся эфир. После этого раствор в делительной воронку подкисляют 4н раствором серной кислоты до pH=1 (17 см^3). Смесь дегазируют. Приливают 30 см^3 эфира, интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоёв нижний водный слой собирают в плоскодонную колбу, а верхний эфирный переносят в чистый концентратор емкостью 250 см^3, пропуская через воронку с безводным сульфатом натрия. Водную фракцию возвращают в делительную воронку. Экстракцию повторяют ещё дважды, используя для этого каждый раз 30 см^3 эфира. Эфирные экстракты объединяют в концентраторе и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С досуха. Сухой остаток переносят тремя порциями по 5 см^3 диэтилового эфира в виалу и высушивают током теплого воздуха. Проводят бутилирование, как указано в пункте 9.1.2.

9.1.2. Бутилирование.

К сухому остатку в виалу добавляют 1 см^3 2% раствора концентрированной серной кислоты в бутаноле. Плотно закрывают виалу крышкой и помещают в блок для виал, нагретый до 100°С. Бутилирование проводят в течение 30 минут. Далее, виалу охлаждают до комнатной температуры, добавляют в нее 10 см^3 гексана, 20-25 см^3 дистиллированной воды. Смесь интенсивно встряхивают и после разделения фаз из верхнего гексанового слоя аликвоту 1 мм^3 вводят в хроматограф.

9.2. Масло рапса.

Навеску масла 10 г растворяют в 100 см^3 гексана и переносят в делительную воронку. Добавляют в делительную воронку 50 см^3 подкисленного ацетонитрила и встряхивают смесь в течение 2 минут. После полного разделения слоев, нижний (ацетонитрильный) слой собирают в концентратор 250 см^3. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 25 см^3 ацетонитрила, встряхивая смесь каждый раз по 2 минут. Из объединенного экстракта отбирают аликвоту 1/10 часть и выпаривают ее на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С до капель масла.

Далее проводят очистку пробы с последующим бутилированием как указано в разделе 9.1.

9.3. Капуста.

Навеску измельченного кочна капусты 10 г помещают в центрифужную банку объемом 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ подкисленного ацетонитрила и встряхивают смесь на встряхивателе в течение 45 минут. Фильтруют экстракт в концентратор емкостью 250 $см^3$ через воронку с бумажным фильтром. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 $см^3$ подкисленного ацетонитрила, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Экстракты объединяют в концентраторе и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С досуха.

К сухому остатку в концентраторе добавляют 5 $см^3$ ацетона, омывают концентратор и помещают на 5 минут на ультразвуковую ванну. В концентратор двумя порциями добавляют 100 $см^3$ воды, ополаскивают стенки концентратора и переносят в делительную воронку.

Добавляют в воронку 5 граммов хлорида натрия, растворяют его путем встряхивания. Подкисляют водную фазу 4н H_2SO_4 до pH=1 (2 $см^3$), добавляют 30 $см^3$ эфира, интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин (Осторожно, необходимо дегазировать смесь!). После полного разделения слоёв нижний водный слой собирают в тот же концентратор, а верхний эфирный в чистый концентратор емкостью 250 $см^3$, пропуская через воронку с безводным сульфатом натрия. Водную фракцию возвращают в делительную воронку. Экстракцию повторяют ещё дважды, используя для этого каждый раз 30 $см^3$ эфира. Эфирные экстракты объединяют в концентраторе и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С досуха. Сухой остаток переносят тремя порциями по 5 $см^3$ диэтилового эфира в виалу и высушивают током теплого воздуха. Далее проводят бутилирование, как указано в пункте 9.1.2.

9.4. Условия хроматографирования.

Высокоэффективный газовый хроматограф «Кристалл 2000м» с детектором по захвату электронов (ЭЗД) с пределом детектирования по Линдану 4×10^{-14} г/$см^3$ и приспособлениями для капиллярной колонки.

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая HP-5, (Crosslinked 5 % фенилсилоксана и 95 % метилсилоксана), длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура детектора – 340^{0}С, испарителя – 260^{0}С, программированный нагрев колонки с 160^{0}С (выдержка 2 минуты) по 5 град/мин до 220^{0}С (выдержка 6 минут).

Газ 1: тип регулятора расхода газа РРГ 11, режим нормальный, скорость 20 см/с, давление 89,46 кПа.

Газ 2 (гелий) – 120 см^3/мин: расход 0,5 см^3/мин, сброс 1:240.

Газ 3 (азот, поддув детектора) – 45 см^3/мин.

Абсолютное время удерживания Клопиралида - 7 мин 14 сек. ± 2%.

Линейность детектирования сохраняется в пределах – 0,025 - 0,25 нг.

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

Образцы, дающие пики больше, чем стандартный раствор с концентрацией Клопиралида 0,25 мкг/см^3, соответственно разбавляют.

Количественное определение Клопиралида проводят по методу абсолютной калибровки посредством сравнения с хроматограммами стандартных растворов Клопиралида с концентрацией 0,025 – 0,25 мкг/см^3.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА.

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программа сбора и обработки хроматографической информации «Хроматэк Аналитик», версия 1.20.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Клопиралида рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{Sпр \cdot A \cdot V \cdot D}{100 \cdot Sст \cdot m} \times P$$

где X - содержание Клопиралида в пробе, мг/кг;

Sст - высота (площадь) пика стандарта, мВ;

Sпр - высота (площадь) пика образца, мВ;

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

D – фактор разбавления, учитывающий взятие аликвоты (по методике = 10);

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

m - масса анализируемого образца, г;

P - содержание Клопиралида 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):

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

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:

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

где X- среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * \bar{X}/100$,

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 0,01мг/кг»*

* - 0.01 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:

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

где, $\pm \Delta_{л,\overline{X}}$ ($\pm \Delta_{л,\overline{X}'}$) – 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 $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

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 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., профессор, канд. с-х. наук, Калинина Т.С., ст.н.сотр., канд. с-х. наук, Рыбакова О.И., науч. сотр., Третьякова О.А., инженер.

ФГОУ ВПО Российский Государственный Аграрный Университет –МСХА имени К.А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (495) 976-37-68, факс: (495) 976- 43-26.

Калинин Рыбакова

Калинин

gost.e-ecolog.ru