Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

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

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2062—4.1.2074—06

Издание официальное

Москва, 2009

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 — 147с.

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. 9,25

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. Методические указания по определению остаточных количеств пиридабена в воде, почве и яблоках методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2062-06.....4
2. Методические указания по определению остаточных количеств триасульфурона в зерне хлебных злаков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2063-06.....15
3. Методические указания по определению остаточных количеств хизалофоп-п-этила в зерне гороха, семенах и масле подсолнечника по основному метаболиту хизалофоп-п кислоте методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2064-06.....22
4. Методические указания по определению остаточных количеств Калиевой соли сульфометурон-метила по сульфометурон-метилу в воде и почве методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2065-06.....33
5. Методические указания по определению остаточных количеств тебуконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2067-06.....45
6. Методические указания по определению остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в масле сои методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2066-06.....52
7. Методические указания по определению остаточных количеств Пендиметалина в зерне зерновых колосовых культур, риса, кукурузы, растительных маслах, зеленой массе кукурузы, рисовой соломке методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2068-06.....63
8. Методические указания по определению остаточных количеств дитианона в винограде, виноградном соке, персиках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2069-06.....77
9. Методические указания по определению остаточных количеств Диквата в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2070-06.....88
10. Методические указания по определению остаточных количеств Трифорина в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2071-06.....99
11. Методические указания по определению остаточных количеств бифентрина в воде, огурцах, томатах и бифентрина и малатиона в зерне пшеницы и риса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2072-06.....109
12. Методические указания по измерению концентраций дикамбы в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2073-06...125
13. Методические указания по измерению концентраций Бромадиолона в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2074-06.....136

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

Г.Г. Онищенко

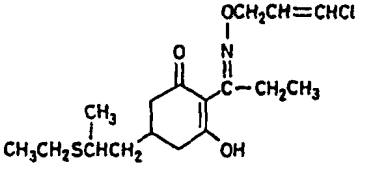
« 5 » мая 2006 г.

МУК 4.1. 2066-06
Дата введения: с 1 июня 2006 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по определению остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в масле сои методом газожидкостной хроматографии

1. Вводная часть

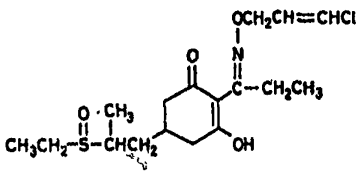
Фирма - регистрант: Ариста Лайф Сайенс С.А.С.
Торговое название препаратов: Селект, Центурион.
Действующее вещество: Клетодим (ISO).
(E,E)-(±)-2-{1-[[3-хлоро-2-(пропенил)окси]имино]пропил}-5-[2-(этилтио)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1 (IUPAC)
Структурная формула:



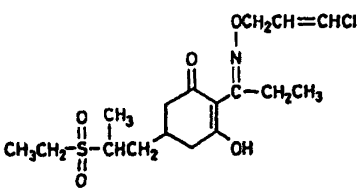
Эмпирическая формула: $C_{17}H_{26}ClNO_3S$
Молекулярная масса: 359,92
Химически чистый клетодим представляет собой вязкую жидкость светло-желтого цвета со слабым ароматическим запахом. Агрегатное состояние в воздухе - аэрозоль + пары.
Удельная масса технического клетодима - 1140 кг/м^3. Давление паров при 25 °С менее 0,013 мПа. Разлагается при температуре ниже точки кипения.
Растворимость в воде 54 мг/дм^3 при pH 7. Растворимость в органических растворителях: более 900 г/дм^3 в большинстве растворителей. Коэффициент распределения в системе октанол - вода 1.5 x 10^7. Температура вспышки 62^{0}С.
Клетодим нестабилен. Разлагается под действием УФ света, при повышенных температурах и экстремальных значениях pH. В аэробных условиях окисляется и разлагается с пе-

риодом полураспада от 1 до 3 дней. Относительно устойчив в водных растворах с pH 7-10 при отсутствии солнечного света. Период полураспада в результате гидролиза в водных растворах с pH 7 и pH 9 составляет 300 и 310 дней, соответственно.
Основные продукты метаболизма - клетодим сульфон и клетодим сульфоксид.

Основные метаболиты:
Клетодим сульфоксид.
Название по ИСО: клетодим сульфоксид.
Название действующего вещества по ИЮПАК: (E,E)-(±)-2-{1-[[3-хлоро-2-(пропенил) окси] имино] пропил}-5-[2-(этилсульфоксид)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1
Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{26}ClNO_4S$
Молекулярная масса: 375,9.
Химически чистый клетодим сульфоксид представляет собой белое кристаллическое вещество. Растворимость в органических растворителях: хорошо растворим в большинстве органических растворителей.
Является основным метаболитом при разложении клетодима в почве в аэробных условиях, в воде (при условиях способствующих фотолизу) и растениях. Клетодим сульфоксид нестабилен. Период полураспада в почве от 2,5 до 20 дней.
Клетодим сульфон.
Название по ИСО: клетодим сульфон.
Название действующего вещества по ИЮПАК: (E,E)-(±)-2-{1-[[3-хлоро-2-(пропенил) окси] имино] пропил}-5-[2-(этилсульфон)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1.
Структурная формула:



Химически чистый клетодим сульфоксид представляет собой белое кристаллическое вещество. Растворимость в органических растворителях: хорошо растворим в большинстве органических растворителей.
Является одним из основных метаболитов при разложении клетодима в почве в аэробных условиях. Клетодим сульфоксид нестабилен. Период полураспада в почве от 1 до 2 дней.

Краткая токсикологическая характеристика:

Клетодим относится к малотоксичным веществам. $ЛД_{50}$ для крыс – 1360-1630 г. Малотоксичен для диких животных, птиц и пчел. $ЛК_{50}$ (8 дней) для перепелов > 6000 мг/кг. $СК_{50}$ (96 ч, мг/л) для форели 56.

Гигиенические нормативы для клетодима:

МДУ в сое (семена и масло) - 0,1 мг/кг.

Область применения препарата: Послевсходовый гербицид для применения на широколистных культурах (свекле, картофеле, моркови, луке, льне, масличных культурах, бобовых и других) для борьбы с одно- и многолетними травами.

2. Методика определения остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в масле сои методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Область применения и принцип методики

Настоящий документ устанавливает методику определения остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов – клетодим сульфоксида и клетодим сульфона в масле сои в диапазоне концентраций 0.1 -1.0 мг/кг.

Методика основана на определении клетодима и его основных метаболитов методом газожидкостной хроматографии с использованием пламенно-фотометрического детектора после экстракции из растительного масла органическими растворителями и очистке экстрактов перераспределением в системе двух несмешивающихся жидкостей, метилировании определяемых соединений диазометаном и очистке экстрактов на колонках с флорисилом. Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых для борьбы с сорной растительностью, защиты овощных и масличных культур от вредителей и болезней (хлор- и фосфорорганические пестициды, амиды, тио- и дитиокарбаматы, синтетические пиретроиды).

Избирательность метода обеспечивается селективными детекторами и использованием неподвижных фаз различной полярности.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика методики измерения концентраций клетодима:
Предел обнаружения – 0,05 мг/кг (Коэффициент извлечения К=0.57).
Диапазон определяемых концентраций – 0,1-1,0 мг/кг.
Среднее значение определения - 75 % (Коэффициент извлечения К=0.75).
Стандартное отклонение 9,3 %. Доверительный интервал среднего 11,4 %.
Минимально детектируемое количество клетодима и его метаболитов в хроматографируемом объеме –5 нг.
Граница суммарной относительной погрешности измерения – 19 %.
Линейный динамический диапазон детектирования 5-100 нг в логарифмической шкале.

Полнота определения клетодима и его метаболитов в масле сои (n=6)

Вводимое вещество	Внесено мг/кг	Определено клетодима, мг/кг	Доверительный интервал по 6-и параллельным определениям, +	Средняя полнота определения, %
Клетодим	0,1	0,060	0,009	60
	0,2	0,170	0,022	85
	0,4	0,324	0,036	81
	1,0	0,790	0,079	79

Клетодим сульфоксид	0,1	0,071	0,008	71
	0,2	0,150	0,010	75
	0,4	0,308	0,016	77
	1,0	0,770	0,021	77
Клетодим сульфон	0,1	0,072	0,008	72
	0,2	0,154	0,012	76
	0,4	0,304	0,018	76
	1,0	0,770	0,023	77

Указанные в таблице значения полноты определения достигаются при выполнении анализов за 4-8 часов в течение одного рабочего дня. При увеличении длительности анализа более 8 часов полнота определения снижается из-за нестабильности определяемых соединений.

2.2. Реактивы, растворы и материалы

Клетодим, аналитический (98 %, Томен Агро Инк., Япония).
Клетодим сульфон, аналитический (98 %, Томен Агро Инк., Япония).
Клетодим сульфоксид, аналитический (98 %, Томен Агро Инк., Япония).
Азот газообразный высокой чистоты, ТУ 301-07-25-89.
Ацетон, осч., ТУ 2633-004-11291058-94.
Ацетонитрил для хроматографии, х.ч., ТУ 6-09-4326-76.
Аммиак водный, ч.д.а., ГОСТ 3760-79, 0,4 и раствор аммиака в воде.
Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-82.
Водород газообразный, ГОСТ 3022-80.
Гексан, ч., ТУ 6-09-3513-82.
Гидроокись калия, х.ч., ГОСТ 1439-78, Гидроокись калия, 50 % водный раствор.
Гидроокись натрия, х.ч., ГОСТ 4328-77, Гидроокись натрия, 0,1 н водный раствор.
Диэтиловый эфир, ч., ГОСТ 6262-79.
Натрий сернокислый, безводный, ч.д.а, свежепрокаленный, ГОСТ 4166-76.
Натрий хлористый, ч., ГОСТ 4233-77.
Неподвижная жидкая фаза OV-3 , Супелко Инк., США.
Неподвижная жидкая фаза PS-400, Alltech Associates Inc. США
Неподвижная жидкая фаза SE-30 , Супелко Инк., США.
N- нитрозометилмочевина, ТУ 6-09-11-1643-82.

Основные стандартные растворы клетодима, клетодим сульфоксида и клетодимсульфона с концентрацией 1 мг/см^3 и рабочие стандартные растворы с концентрацией 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, 50 мкг/см^3 в ацетонитриле.

Раствор хлороформ-ацетон в соотношении 9:1 по объему.
Соляная кислота, х.ч., ГОСТ 3118-77.
Супелкосил (60-100 меш), Супелко Инк, США.
Фильтры бумажные "синяя лента", ТУ 6-09-1678 77.
Фильтры бумажные "белая лента", ТУ 6-09-1678 77.
Флорисил (100-120 меш), Мерк, Германия.
Хлористый натрий, х.ч., ГОСТ 4233-77.
Хлороформ, чда, ГОСТ 20015-84.
Хромосорб G-AW-DMCS зернением 80-100 меш, Супелко Инк, США.
Хромосорб 750 зернением 100-120 меш, Serva, Германия.
Целит 545 (0,02-0,045 мм), Serva, Германия.
Этанол, о.с.ч., ТУ 6-09-4512-77.

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Газовый хроматограф, снабженный пламенно-фотометрическим детектором.

Хроматографические колонки стеклянные длиной 1 м и 1,2 м с внутренним диаметром 2 мм.

Баня водяная, ТУ 64-1-2850-76 или аналогичная.

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

Весы технические ВЛКТ-500 или аналогичные, ГОСТ 24104-2001.

Воронки химические, конусные, ГОСТ 25336-82.

Воронки делительные на 100, 250 и 500 $см^3$, ГОСТ 8613-75.

Воронки фильтрующие ВФ-2-60-ПОР 160-14/23ХС, ГОСТ 25336-82.

Испаритель вакуумный ротационный ИР-1М или аналогичный, ТУ 25-11917-74.

Колбы круглодонные со шлифом на 50, 100, 250 и 500 $см^3$, ГОСТ 25336-82.

Колбы плоскодонные со шлифом вместимостью 250, 500, 1000 $см^3$, ГОСТ 25336-82.

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Колонки хроматографические стеклянные, длиной 250 мм и диаметром 8 мм.

Микропипетки, ГОСТ 20292-74.

Микрошприц МШ-10, МШ-10М, ТУ 2-833-106.

Насос стеклянный вакуумный водоструйный, ГОСТ 10696-75.

Палочки стеклянные, ГОСТ 25336-82.

Пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$, ГОСТ 22292-74.

Стаканы химические, ГОСТ 25336-82Е.

Цилиндры мерные вместимостью 50, 100, 500 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1774-74.

2.4. Отбор и хранение проб

Отбор проб семян и масла сои производится в соответствии с ГОСТ 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб». Масло сои хранят при температуре 0-4^{0}С в холодильнике не более 2-х недель в стеклянной таре темного стекла при отсутствии воздушной прослойки между поверхностью масла и пробкой или получают из семян в лабораторных условиях в день проведения анализа.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и кондиционирование колонок для газожидкостной хроматографии

Готовую насадку (2% SE-30 на хромосорбе G-AW-DMCS или 5 % OV-3 на хромосорбе 750) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и выдерживают в потоке азота (30 $см^3$/мин) при температуре 260°С в течение 8 часов.

2.5.2. Подготовка растворителей и приготовление растворов

Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют.

Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. Для этого 100 $см^3$ растворителя испаряют при помощи вакуумного ротационного испарителя при температуре 40 °С досуха, обмывают стенки колбы 2 $см^3$ растворителя и хроматографируют полученный раствор. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

50% раствор гидроокиси калия готовят растворением 50 г КОН в 50 $см^3$ дистиллированной воды.

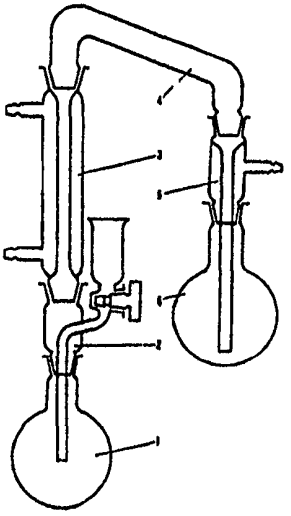
Раствор хлороформ – ацетон в соотношении 9:1. 900 $см^3$ хлороформа смешивают со 100 $см^3$ ацетона.

0,4 н раствор аммиака готовят разбавлением 28 $см^3$ концентрированного 25 % раствора аммиака до 1 $дм^3$ дистиллированной водой.

0,1 н раствор гидроокиси натрия. 4 г гидроокиси натрия помещают в мерную колбу на 1 $дм^3$, растворяют в 100 – 200 $см^3$ дистиллированной воды и доводят до метки водой.

Раствор ацетона в 0,4 н NH_4OH в соотношении 1:8. Смешивают 10 $см^3$ ацетона с 80 $см^3$ 0,4 н. раствора аммиака.

2.5.3 Приготовление раствора диазометана в эфире



В круглодонную колбу на 100 $см^3$ помещают 15 $см^3$ 50%-ного водного раствора едкого кали и 15 $см^3$ диэтилового эфира. Смесь охлаждают до 5°С, затем при взбалтывании прибавляют 5 г нитрозометилмочевины. Колбу присоединяют к холодильнику, нижний конец которого снабжен аллонжем с отводом, проходящим через резиновую пробку и погруженным в слой эфира (40 $см^3$) на дне приемника. Приемник охлаждают смесью льда и соли. Реакционную колбу погружают в водяную баню, нагревают до 30 °С. Отгонку прекращают, как только перестают идти пузырьки газа через слой эфира в приемнике.

Рис. 1. Прибор для получения диазометана:
1 реакционный сосуд; *2*-переходник с капельницей; *3*-холдильник; *4* — переходник; *5* - насадка с отводом; *6* - приемная колба.

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают по 50 мг аналитических стандартов клетодима, клетодим сульфоксида и клетодим сульфона, переносят в мерные колбы объемом 50 $см^3$ и доводят до метки ацетонитрилом. Концентрация растворов 1 мг/ $см^3$ (основные стандартные растворы № 1).

Методом последовательного разбавления из растворов № 1 готовят стандартные растворы клетодима и его метаболитов в ацетонитриле с концентрацией 2,5; 5; 10; 20; 50 мкг/ $см^3$ для получения рабочих стандартных растворов продуктов реакции метилирования.

Рабочие стандартные растворы метилированных клетодима и его метаболитов готовят следующим. По 1 $см^3$ рабочих стандартных растворов с концентрацией 2,5; 5; 10; 20; 50; мкг/$см^3$ помещают в круглодонные колбы на 50 $см^3$. Растворитель выпаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Колбу охлаждают до комнатной температуры, добавляют 3 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки колбы. Быстро приливают 1 $см^3$ эфирного раствора диазометана. Закрывают колбу пробкой и оставляют при комнатной температуре на 15 мин, периодически встряхивая содержимое колбы. Растворитель выпаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона. Метилирование проводят в день проведения анализа.

Основные и рабочие стандартные растворы клетодима и его метаболитов устойчивы при хранении в диапазоне температур от 0 до +4 °С и отсутствии солнечного света в течение недели, при хранении в диапазоне температур от –3 до –5 °С в течение двух месяцев.

2.5.5. Подготовка флорисила (супелкосила) и хроматографических колонок для очистки экстрактов

Флорисил (супелкосил) прокаливают в муфельной печи при температуре 350-400 °С в течение не менее 16 часов. Остужают в эксикаторе. Сорбент помещают в плоскодонную колбу, добавляют 3% дистиллированной воды (по весу) и встряхивают содержимое колбы на механическом встряхивателе в течение 2 час. Оставляют стоять на 48 часов, периодически встряхивая содержимое колбы (2 раза в сутки по 30 мин).

Колонка № 1. В нижний конец стеклянной хроматографической колонки длиной 250 мм и внутренним диаметром 8 мм помещают тампон из стекловаты. Перекрывают кран колонки и заполняют колонку на 1/3 хлороформом. Заполняют колонку сорбентом, добавляя в колонку флорисил (супелкосил) в виде суспензии в хлороформе. Понижают уровень растворителя, приоткрывая кран колонки, и следя за тем, чтобы уровень растворителя не опустился ниже слоя сорбента. Колонку заполняют до получения слоя сорбента высотой 9 см, сверху помещают тампон из стекловаты. Понижают уровень растворителя, чтобы высота слоя растворителя над верхней границей сорбента составляла 0,5-0,7 мм. Через колонку пропускают 10 $см^3$ ацетона, а затем 15 $см^3$ хлороформа.

Колонки № 2 и № 3. В нижний конец стеклянной хроматографической колонки длиной 250 мм и внутренним диаметром 8 мм помещают тампон из стекловаты. Перекрывают кран колонки и заполняют колонку на 1/3 ацетонитрилом. Заполняют колонки сорбентом, добавляя в колонку флорисил (супелкосил) в виде суспензии в ацетонитриле. Понижают уровень растворителя, приоткрывая кран колонки, и следя за тем, чтобы уровень растворителя не опустился ниже слоя сорбента. Колонку заполняют до получения слоя сорбента высотой 5 см (колонка № 2) и 10 см (колонка № 3), сверху помещают тампон из стекловаты. Понижают уровень растворителя, чтобы высота слоя растворителя над верхней границей сорбента составляла 0,5-0,7 мм. Через колонки пропускают 10 $см^3$ ацетонитрила.

Для каждой приготовленной партии флорисила (супелкосила) проверяют объем удерживания метилированных клетодима и его метаболитов на хроматографических колонках.

2.5.6. Подготовка фильтрующей воронки

Из фильтра "синяя лента" вырезают кружок, по диаметру точно соответствующий диаметру стеклянного пористого фильтра фильтрующей воронки. Помещают кружок на стеклянный пористый фильтр, смачивают дистиллированной водой и плотно прижимают к фильтру. В воронку помещают целит 545 слоем 1–2 см. Собирают фильтровальную установку, состоящую из круглодонной колбы, переходника и фильтрующей воронки с целитом. Подсоединяют установку к водоструйному насосу и промывают целит 50 $см^3$ дистиллированной воды или ацетонитрила, которые затем отбрасывают.

2.5.7. Построение калибровочных графиков

Рабочие стандартные растворы метилированных клетодима и его метаболитов с концентрацией 2,5; 5; 10; 20; 50 $мкг/см^3$ хроматографируют, а затем на основании данных хроматографирования строят калибровочные графики, откладывая по оси ординат высоты (площади) пиков, на оси абсцисс – количество клетодима или его метаболитов.

Осуществляют не менее 5-ти параллельных измерений для каждой концентрации. Находят среднее значение высоты (площади) пика для каждой концентрации. Строят градуировочные графики зависимости высоты в мм (площади в мв × с) хроматографического пика от концентрации клетодима или его метаболитов в растворе (мкг/мл).

При калибровке для метода газожидкостной хроматографии зависимость высоты (площади) пика от концентрации рабочих стандартных растворов линейна в логарифмической шкале координат. Зависимость имеет вид $y = x^n$, где y - высота (площадь) хроматографического пика, x – концентрация стандартного раствора, n – безразмерный параметр, принимающий значения от 1,5 до 2.

2.5.8. Подготовка приборов и средств измерения

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения производится в соответствии с требованиями стандартов и технической документации.

2.6. Описание измерения

2.6.2.1. Экстракция

Навеску масла 25-50 г помещают в делительную воронку на 250 см^3, приливают 100 см^3 ацетонитрила и энергично встряхивают в течение 3 мин. После разделения фаз масло сливают в химический стакан. Ацетонитрильный экстракт фильтруют под вакуумом, используя водоструйный насос, в круглодонную колбу на 1000 см^3 через фильтрующую воронку со стеклянной пористой пластинкой (ПОР 160), на которую помещен кружок из фильтра "синяя лента" и слой целита 545 толщиной 2 см, предварительно промытый ацетонитрилом (см. п. 2.5.6.). Если в процессе фильтрации в слое целита образуется воронка, перед следующей фильтрацией слой выравнивают, добавляя небольшое количество целита. Масло снова помещают в делительную воронку. Экстракцию повторяют еще 3 раза порциями ацетонитрила по 100 см^3. Ацетонитрил выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 2.6.2.2.

2.6.2.2. Очистка экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися жидкостями

Остаток в колбе растворяют в 5 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки колбы. Добавляют 40 см^3 0,4 н раствора аммиака, энергично перемешивают в течение 2 мин и оставляют на 3 мин. Смесь фильтруют в круглодонную колбу на 250 см^3 под вакуумом через фильтрующую воронку с пористой стеклянной пластинкой (ПОР 160), на которую помещен бумажный кружок из фильтра "синяя лента" и слой целита 545 толщиной 1 см, предварительно промытый дистиллированной водой (см. п. 2.5.6.). Слой целита трижды промывают порциями по 5 см^3 смеси ацетона и 0,4 н раствора аммиака в соотношении 1:8 по объему. В фильтрате растворяют 10 г хлористого натрия, добавляют 2 см^3 концентрированной соляной кислоты, перемешивают содержимое колбы и помещают в делительную воронку на 250 см^3. Экстрагируют клетодим и его метаболиты 50 см^3 хлороформа, встряхивая 2 мин. После разделения слоев нижнюю хлороформную фракцию фильтруют через фильтр "белая лента" со слоем безводного сульфата натрия толщиной 2 см в круглодонную колбу на 250 см^3. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 см^3 хлороформа каждый раз. Объединенный экстракт выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 45 °С. Колбу охлаждают до комнатной температуры, остаток растворяют в 3 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки колбы. Проводят метилирование экстракта по п. 2.6.2.3.

2.6.2.3. Метилирование

К ацетоновому раствору прибавляют 1 см^3 эфирного раствора диазометана, закрывают колбу пробкой и оставляют при комнатной температуре на 15 мин, периодически встряхивая колбу. Реакционную смесь выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Остаток в колбе растворяют в 25 см^3 хлороформа. Полученный раствор переносят в делительную воронку на 100 мл. Стенки колбы обмывают тремя порциями хлороформа по 5 см^3, которые присоединяют к основному раствору. Раствор промывают сначала 10 см^3 0,1 н раствора NaOH, встряхивая делительную воронку в течение 1 мин. После разделения слоев хлороформный раствор сливают в ту же колбу, а затем вновь помещают в делительную воронку, водную фракцию отбрасывают. Операцию повторяют с 10 см^3 дистиллированной воды. Хлороформный раствор фильтруют в круглодонную колбу на 100 см^3 через фильтр "белая лента" со слоем безводного сульфата натрия высотой 2 см. Водный слой отбрасывают. Хлороформ упаривают до объема 1–2 см^3 на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 45 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 2.6.2.4.

2.6.2.4. Очистка экстракта на колонках с флорисилом (супелкосилом)

Перед внесением пробы уровень растворителя в колонке понижают почти до верхнего края сорбента. При помощи стеклянной или автоматической пипетки концентрированный

раствор вносят в хроматографическую колонку № 1, дают пробе впитаться. Стенки колбы трижды обмывают порциями хлороформа по 1 $см^3$, которые также вносят в колонку. Пропускают через колонку 5 $см^3$ хлороформа, элюат отбрасывают. Элюируют метилированный клетодим 10 $см^3$ смеси хлороформа с ацетоном в соотношении 9:1 по объему (фракция 1). Затем элюируют метилированные метаболиты клетодима 15 $см^3$ ацетона (фракция 2) со скоростью 2 $см^3$/мин. Фракции собирают отдельно в круглодонные колбы на 100 $см^3$. Растворители выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С.

Остаток после упаривания фракции 1 растворяют в 3 $см^3$ ацетонитрила. При помощи пипетки полученный раствор вносят в хроматографическую колонку № 2 (при анализе семян) или № 3 (при анализе масла). Стенки колбы обмывают дважды ацетонитрилом порциями по 1 $см^3$, которые также вносят в колонку, дают пробе впитаться. Элюируют пробу через колонку со скоростью 2 $см^3$/мин 15 мл ацетонитрила (колонка № 2) или 25 $см^3$ ацетонитрила (колонка № 3). Весь элюат собирают в круглодонную колбу на 100 $см^3$. Ацетонитрил выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Сухой остаток растворяют в 1–2 $см^3$ ацетона и 1–5 $мм^3$ полученного раствора вводят в хроматограф для определения содержания клетодима по п. 2.7.2.

Для достижения предела обнаружения клетодима 0.05 мг/кг, сухой остаток растворяют в 0.5 $см^3$ ацетона и 5 $мм^3$ раствора вводят в хроматограф.

Сухой остаток в колбе после упаривания фракции 2 растворяют в 1–2 $см^3$ ацетона и 1–5 $мм^3$ полученного раствора вводят в хроматограф для определения содержания клетодим сульфоксида и клетодим сульфона.

2.7. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с пламенно-фотометрическим детектором.

Основной вариант:

Носитель - хромосорб G-AW-DMCS (80-100 меш). Неподвижная фаза - 2% SE-30.

Колонка стеклянная, длиной 1 м и внутренним диаметром 2 мм.

Газ-носитель – азот высокой чистоты. Скорость потока:

азота – 50 $см^3$/мин при определении метилированных клетодима и клетодим сульфона и 30 $см^3$/мин при определении метилированного клетодим сульфоксида;

водорода – 70 $см^3$/мин;

воздуха - 50 $см^3$/мин.

Условия хроматографирования при определении клетодима:

Температура:

начальная термостата колонок 200 °С в течение 2 мин;

скорость подъема температуры 4 °С/мин;

конечная термостата колонок 220 °С;

термостата испарителя 250 °С, термостата детектора 250 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодима 5,0±0,3 мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфоксида:

Температура:

начальная термостата колонок 90 °С в течение 1 мин;

скорость подъема температуры 12 °С/мин;

конечная термостата колонок 180 °С;

термостата испарителя 200 °С, термостата детектора 200 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфоксида 7,3±0,3 мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфона:

Температура:

начальная термостата колонок 210 °С в течение 2 мин;

скорость подъема температуры 8 °С/мин;

конечная термостата колонок 240 °С;

термостата испарителя 250 °С, термостата детектора 250 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфона 6,7±0,3 мин.

Альтернативный вариант:

Носитель - хромосорб 750 (100-120 меш). Неподвижная фаза - 5% OV-3.

Колонка стеклянная, длиной 1,2 м и внутренним диаметром 2 мм.

Скорость потока:

азота – 50 $см^3$/мин при определении метилированного клетодима и 30 $см^3$/мин при определении метилированного клетодим сульфоксида и клетодим сульфона;

водорода – 70 $см^3$/мин; воздуха - 50 $см^3$/мин.

Условия хроматографирования при определении клетодима:

Температура термостата колонок 220 °С; испарителя 250 °С, детектора 250 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодима 6,5±0,3 мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфоксида:

Температура:

начальная термостата колонок 80 °С в течение 2 мин;

скорость подъема температуры 16 °С/мин;

конечная термостата колонок 150 °С;

термостата испарителя 200 °С, термостата детектора 200 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфоксида 5,3±0,3 мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфона:

Температура:

начальная термостата колонок 230 °С в течение 2 мин;

скорость подъема температуры 12 °С/мин;

конечная термостата колонок 260 °С;

термостата испарителя 250 °С, термостата детектора 300 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфона 6,2±0,3 мин.

Скорость движения ленты самописца (интегратора) – 0,2 см/мин.

Вводимый в хроматограф объем пробы – 1-5 $мм^3$.

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

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы клетодима и его метаболитов с концентрациями 40 мкг/ $см^3$, разбавляют.

2.8. Обработка результатов анализа

Содержание клетодима в пробах ($X_{кл}$) вычисляют как сумму концентраций клетодима и его метаболитов в пересчете на исходное действующее вещество:

$$X_{кл} = C_{кл} + C_{ксо} \cdot 0{,}96 + C_{ксф} \times 1{,}01;$$

где: $C_{кл}$ - содержание клетодима в пробе, мг/$дм^3$ (мг/кг);

$C_{ксо}$ - содержание клетодим сульфоксида в пробе, мг/$дм^3$ (мг/кг);

$C_{ксф}$ - содержание клетодим сульфона в пробе, мг/$дм^3$ (мг/кг);

Содержание клетодима и его метаболитов для каждого в отдельности рассчитывают по формуле:

$$C_i = (C_{is} \cdot V_{is})^{\frac{lg S_i}{lg S_{is}}} \cdot \frac{V_1}{V_2 \cdot V_3 \cdot K}$$

где C_i - концентрация *i*-го вещества в пробе, мг/дм^3 (мг/кг);
C_{is} - концентрация *i*-го стандартного раствора, мкг/см^3;
V_{is} - объем *i*-го стандартного раствора, вводимого в хроматограф, мм^3;
V_1 - объем анализируемой пробы, см^3;
V_2 - объем раствора анализируемой пробы, вводимого в хроматограф, мм^3;
V_3 - масса или объем анализируемой пробы, см^3 (г);
K - коэффициент извлечения, определяемый предварительно;
S_i - площадь (высота) пика анализируемого метаболита, мв·сек, (мм);
S_{is} - площадь (высота) пика *i*-го стандартного раствора, мв·сек, (мм).

3. Оформление результатов измерений

Результаты измерений содержания клетодима и его метаболитов в образцах зерна представляют в виде:

$$(X_{ср} \pm \Delta) \text{ мг/кг},$$

где Δ – показатель точности результатов анализа (границы, в которых погрешность любого из совокупности результатов анализа, полученных при реализации методики, находится с принятой вероятностью P=0.95).

4. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005-88).
При выполнении измерений с использованием газового хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкциями по эксплуатации приборов.
Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91.

5. Требования к квалификации оператора

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом газожидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации газового хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п.6.

6. Контроль погрешности измерений.

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

5. Разработчики.

[illegible]ИЗР), Маслаков С.Е., Рубанова В.Ф. (СПбНИИЛХ).

gost.e-ecolog.ru