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 4.1.1941—4.1.1954—05

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.—140 с.

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. 8.75

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

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

18 января 2005 г.

МУК 4.1. 1254-03

Дата введения: 15.01.03

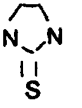
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств этилентиомочевины в картофеле, огурцах, томатах, томатном соке, луке, винограде и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации этилентиомочевины в картофеле, огурцах, томатах и томатном соке в диапазоне 0,002 – 0,04 мг/кг, луке, винограде и виноградном соке в диапазоне 0,004 – 0,04 мг/кг.

Этилентиомочевина - продукт метаболизма пестицида класса этиленбисдитиокарбаматов манкоцеба действующего вещества препарата МЕТАКСИЛ, СП (640 г/кг манкоцеба + 80 г/кг металаксила), производитель ЗАО Фирма «Август» (Россия)

Этилентиомочевина (ЭТМ) – имидазолидин-2-тион (IUPAC)



$C_3H_6N_2S$

Мол. масса 102,17

Белое кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления: 203 – 204^{0}С. Практически нерастворима в ацетоне, диэтиловом эфире, хлороформе, бензоле, керосине, умеренно растворима в метаноле, этаноле, уксусной кислоте, этиленгликоле, пиридине. Растворимость в воде – 20 г/дм^3 (25^{0}С); 90 г/дм^3 (60^{0}С) 440 г/дм^3 (90^{0}С).

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 550 - 1832 мг/кг; для мышей 2400 - 4000 мг/кг.

Гигиенические нормативы:

ДСД – 0,001 мг/кг массы тела.

МДУ во всех растительных и пищевых продуктах - 0,02 мг/кг

Область применения препарата

Препарат МЕТАКСИЛ, СП (640 г/кг манкоцеба + 80 г/кг металаксила) рекомендуется в качестве фунгицида на виноградной лозе; картофеле, огурцах, томатах открытого грунта; луке.

1. Метрологические характеристики метода

Метрологические характеристики метода представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологические параметры

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, ± %
Лук (репка)	0,004	0,004 – 0,04	90,8	1,3	3,7
Виноград (ягоды)	0,004	0,004 – 0,04	74,7	1,4	3,9
Виноградный сок	0,004	0,004 – 0,04	83,5	1,6	4,5
Огурцы	0,002*	0,002– 0,04	77,0	1,3	2,8
Томаты, томатный сок	0,002*	0,002 – 0,04	76,0	1,4	3,0
Картофель	0,002*	0,002 – 0,04	73,5	1,6	3,3

* - при соотношении сигнал/шум равном 5.

Таблица 2

Полнота извлечения ЭТМ из лука, винограда и виноградного сока, огурцов, томатов (томатного сока), картофеля (5 повторностей для каждой концентрации)

Среда	Внесено ЭТМ мг/кг	Обнаружено ЭТМ мг/кг	Полнота извлечения, %
Лук (репка)	0,004	0,0036488 ± 0,0003935	91,2
	0,008	0,0071832 ± 0,0004143	89,8
	0,02	0,0180160 ± 0,0012147	90,1
	0,04	0,0367860 ± 0,0034592	92
Виноград (ягоды)	0,004	0,0030570 ± 0,0003338	76,4
	0,008	0,0059824 ± 0,0007715	74,8
	0,02	0,0148670 ± 0,0006182	74,3
	0,04	0,0293200 ± 0,0034620	73,3
Виноградный сок	0,004	0,0034766 ± 0,0001487	86,9
	0,008	0,0068238 ± 0,0005195	85,3
	0,02	0,0160948 ± 0,0008527	80,5
	0,04	0,0324636 ± 0,0023484	81,2
Огурцы	0,002	0,00147 ± 0,000084	73,5
	0,01	0,00764 ± 0,00036	76,4
	0,02	0,01562 ± 0,00064	74,3
	0,04	0,03200 ± 0,00124	73,3
Томаты (томатный сок)	0,002	0,001464 ± 0,000088	73,2
	0,01	0,00754 ± 0,00033	75,4
	0,02	0,01548 ± 0,00068	77,4
	0,04	0,03120 ± 0,00124	78,0
Картофель	0,004	0,002812 ± 0,000184	70,3
	0,01	0,00736 ± 0,00037	73,6
	0,02	0,01500 ± 0,00074	75,0
	0,04	0,03008 ± 0,00140	75,2

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после экстракции из анализируемых проб метанолом, очистки экстракта на колонке с оксидом алюминия.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в интенсивной технологии выращивания лука, винограда, огурцов, томатов, картофеля.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны, оборудованный термостатом колонок	
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г	ГОСТ 7328
Меры массы	ГОСТ 7328
Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2, 2-500-2 и 2-1000-2	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 10, 25, 50, 250 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Этилентиомочевина, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,0% (ВНИИХСЗР, Россия) или другого производителя	
Алюминий оксид для хроматографии, нейтральный	

(фирмы "Реанал", Венгрия)	
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851-78
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария) или FINNSONIC OY (Финляндия)	
Бумажные фильтры "белая лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Воронка Бюхнера	ГОСТ 25336
Воронки с фильтром Шота № 3	ГОСТ 8682
Воронки химические конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	
Груша резиновая	
Источник чистого сжатого воздуха (баллон или безмасляный компрессор) или любого инертного газа	
Колба Бунзена	ГОСТ 25336
Колбы плоскодонные с пришлифованными пробками вместимостью 200 – 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 100, 150 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336
Колонка стеклянная, внутренним диаметром 13 - 15 мм, высотой 30 - 40 см	
Мелкая терка для овощей	
Мембранные фильтры капроновые или фторопластовые, диаметром 47 мм, размер пор 0,45 мкм	ТУ 6-55-221-1323-93
Мешалка магнитная MR 3001 фирмы Heidolph	
Набор для фильтрации проб для ВЭЖХ фирмы "MILLIPOR" с капроновыми мембранами, размер пор 0,2 мкм	

Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696
Переход с боковым отводом	ГОСТ 8682
Прибор для получения особо чистой (деионизованной) воды «Водолей»	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М, ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария) или Laborota 4000 фирмы "Heidolph" (Германия)	ТУ 25-11-917-74
Стаканы химические, вместимостью 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Трубка хлоркальциевая	ГОСТ 25336
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Spherisorb S5 ODS 2, зернением 5 мкм	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Zorbax SB C18, зернением 5 мкм	
Шкаф сушильный ШС-1/80 СПУ ПГИЖ 6819454.006	ТУ 3443-010-00141798-01
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50 – 100 $мм^3$	

Допускается применение другого оборудования и хроматографических колонок с аналогичными техническими характеристиками, обеспечивающими аналогичное разделение

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005).

4.2. При выполнении измерений с использованием газового и жидкостного хроматографов соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12 1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

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

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят согласно ГОСТу 15150 при температуре воздуха $(20\pm5)^0$С, атмосферном давлении 630 - 800 мм рт. ст. и относительной влажности не более 80%.

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

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей, подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, приготовление градуировочных растворов, построение градуировочной характеристики, подготовка колонки для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонке с оксидом алюминия.

7.1. Подготовка органических растворителей

Метилен хлористый последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, далее водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом. Хранят над безводным сульфатом натрия.

Метанол подвергают перегонке при атмосферном давлении с дефлегматором.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 990 см^3 бидистиллированной воды, добавляют 10 см^3 метанола, перемешивают, фильтруют и дегазируют

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой для ВЭЖХ со скоростью подачи растворителя 0,3 см^3/мин (анализ по п. 9.3.1) или 1 см^3/мин (анализ по п. 9.3.2) до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление растворов для градуировки

7.4.1. Исследование проб лука, винограда и виноградного сока

7.4.1.1. Исходный раствор для градуировки (концентрация 1 мг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,1 г ЭТМ, доводят до метки бидистиллированной водой, тщательно перемешивают.

Исходный раствор хранится в холодильнике в течение 3-х месяцев в плотно закрытой посуде.

Растворы № 1-6 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора.

7.4.1.2. Раствор № 1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3) В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного раствора для градуировки с концентрацией 1 мг/см^3, доводят до метки бидистиллированной водой, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения ЭТМ из исследуемых образцов.

7.4.1.3. Раствор № 2 для градуировки (концентрация 1 мкг/см^3) В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 раствора № 1 для градуировки с концентрацией 10 мкг/см^3, доводят до метки бидистиллированной водой, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.4.1.4 Рабочие растворы №№ 3-6 для градуировки (соответствуют концентрациям 0,01 – 0,1 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают с помощью пипетки по 1; 2; 5 и 10 см^3 раствора № 2 с концентрацией 1 мкг/см^3 (п. 7.4.1.3.), доводят до метки бидистиллированной водой, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы ЭТМ №№ 3 - 6 с концентрациями 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике в течение недели.

7.4.2. Исследование проб картофеля, огурцов, томатов и томатного сока

7.4.2.1. Исходный раствор для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,01 г ЭТМ, доводят до метки метанолом, тщательно перемешивают.

Исходный раствор хранится в морозильной камере при –12^{0}С не более 15 дней.

7.4.2.2. Раствор № 1а для градуировки (концентрация 5 мкг/см^3) В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 5 см^3 исходного раствора для градуировки с

концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.4.2.1), доводят до метки подвижной фазой для ВЭЖХ (п. 7.2).

7.4.2.3. Рабочие растворы №№ 2а – 5а для градуировки (соответствуют концентрациям 0,025 – 0,5 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают с помощью пипетки по 0,5; 2,5; 5 и 10 см^3 раствора № 1' с концентрацией 5 мкг/см^3 (п. 7.4.2.2), доводят до метки подвижной фазой для ВЭЖХ (п. 7.2), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы ЭТМ №№ 2а – 5а с концентрациями 0,025; 0,125; 0,25 и 0,5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике не более суток

7.5. Построение градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (отн. единицы) от концентраций ЭТМ в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки №№ 3 – 6 или 2а –5а.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.1. или 9.3.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

7.6. Подготовка колонки с оксидом алюминия для очистки экстракта

Оксид алюминия, помещенный на воронку Бюхнера, промывают трижды порциями метанола, равными объему сорбента, сушат разряжением, создаваемым водоструйным насосом, затем активируют в сушильном шкафу при 140 - 150^{0}С в течение 15-ти часов, охлаждают в эксикаторе.

При исследовании проб лука, винограда и виноградного сока нижнюю часть стеклянной колонки длиной 35 – 40 см, внутренним диаметром 13-15 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 20 г оксида алюминия в 30-35 см^3 хлористого метилена. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. После этого колонка готова к работе.

При исследовании проб картофеля, огурцов, томатов и томатного сока используют суспензию 7,5 г оксида алюминия в 20 см^3 дихлорметана, а также колонку длиной 30 см.

7.7. Проверка хроматографического поведения ЭТМ на колонке с оксидом алюминия

7.7.1. Лук, виноград и виноградный сок

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 2 для градуировки (п. 7.4.1.3.), добавляют 8 см^3 метанола, перемешивают и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Промывают колонку 100 см^3 смеси хлористый метилен-метанол (19:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 5-ти см^3 бидистиллированной воды, анализируют на содержание ЭТМ по п. 9.3.1.

7.7.2. Картофель, огурцов, томатов и томатный сок

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,05 см^3 исходного раствора с концентрацией ЭТМ 100 мкг/см^3 в метаноле (п. 7.4.2.1.), удаляют растворитель слабым потоком чистого сжатого воздуха или инертного газа, остаток количественно переносят тремя порциями (1,5 + 1,5 + 2 см^3) водного метанола (150 мг воды в 5 см^3 метанола) на колонку, подготовленную по п. 7.6. Промывают колонку 90 см^3 смеси хлористый метилен-метанол (19:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек. Фракционно (по 6 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1-2-х см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ (п.7.2), анализируют на содержание ЭТМ по п. 9.3.2.

Фракции, содержащие ЭТМ, объединяют и вновь анализируют.

Рассчитывают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Проверку хроматографического поведения ЭТМ следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 21.08.79 г., № 2051-79.

Отобранные пробы лука, винограда и виноградного сока анализируют в день отбора или хранят при 4^{0}С в течение 10-ти дней, срок хранения образцов огурцов, томатов, картофеля – не более недели.

Для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре -18^0С. Непосредственно перед анализом образцы лука и винограда измельчают на гомогенизаторе, огурцов, томатов, картофеля – при помощи терки для овощей.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Лук, виноград, виноградный сок

Образец измельченного лука, ягод винограда или виноградного сока массой 20 г помещают в коническую колбу вместимостью 200 - 250 $см^3$, вносят 100 $см^3$ метанола. Колбы с образцами лука и ягод винограда встряхивают на механическом встряхивателе в течение 45-ти минут. Образец виноградного сока помещают на 2 часа в холодильник ($4-6^0$С).

Затем растворы фильтруют на воронке Бюхнера через двойной бумажный фильтр «красная лента» под вакуумом. Осадок на фильтре промывают дважды по 20 $см^3$ метанола. Экстракт и промывку переносят в мерный цилиндр вместимостью 200 $см^3$ с пришлифованной пробкой, перемешивают, измеряют объем раствора, ½ его часть (эквивалентную 10 г образца) переносят в круглодонную колбу и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 45^0С до получения малоподвижной вязкой массы. Колбу с остатком отсоединяют от роторного испарителя. Оставшиеся капли конденсата выше уровня исходного фильтрата (около шлифа грушевидной колбы) удаляют с помощью фильтровальной бумаги. Для более полного освобождения от летучих продуктов содержимое колбы продувают слабой струей сжатого воздуха в течение 10-15 мин.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.1.

9.1.2. Картофель, огурцы, томаты, томатный сок

Образец измельченных огурцов, картофеля, томатов или томатного сока массой 25 г помещают в коническую колбу вместимостью 200 - 250 $см^3$, вносят 50 $см^3$ метанола. Содержимое колбы интенсивно перемешивают в течение 30-ти минут на магнитной мешалке. Полученный экстракт переносят на фильтр Шота, присоединенный через переходник к грушевидной колбе вместимостью 200 $см^3$, и фильтруют с помощью водоструйного насоса. Осадок растительного материала на фильтре промывают 25 $см^3$ метанола, фильтруя промывной раствор в ту же грушевидную колбу. Фильтрат упаривают при температуре не выше 60^0С до получения

малоподвижной (томаты, томатный сок) или практически не текучей (огурцы, картофель) вязкой массы. Колбу с остатком отсоединяют от роторного испарителя. Оставшиеся капли конденсата выше уровня исходного фильтрата (около шлифа грушевидной колбы) удаляют с помощью фильтровальной бумаги. Для более полного освобождения от летучих продуктов содержимое колбы продувают слабой струей сжатого воздуха или инертного газа в течение 20-30 мин.

9.2. Очистка экстракта

9.2.1 Лук, виноград, виноградный сок

Высушенный экстракт, полученный по п. 9.1.1, растворяют при перемешивании и температуре 38-42^{0}С в 2 см^3 метанола и 0,5 см^3 бидистиллированной воды, помещая колбу на ультразвуковую баню. Затем в колбу вносят порциями по 2 см^3 еще 6 см^3 метанола. После прибавления последней порции колбу закрывают пришлифованной пробкой и помещают на ультразвуковую баню на 2-3 мин.

Полученный водно-метанольный раствор переносят в подготовленную по п. 7.3. колонку, дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. ЭТМ элюируют с колонки 70 см^3 смеси хлористый метилен-метанол (19:1, по объему), собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3. Раствор упаривают при температуре не выше 45^{0}С почти досуха, затем продувают слабой струей сжатого воздуха досуха Остаток растворяют в 4 см^3 бидистиллированной воды, помещая колбу на ультразвуковую баню. Раствор фильтруют при помощи набора для фильтрации проб (или через плотный тампон из стекловаты, помещенный в конусную воронку) и анализируют на содержание ЭТМ по п.п. 9.3.

9.2.2. Огурцы, томаты, томатный сок, картофель

Высушенный экстракт, полученный по п. 9.1.2, растворяют при медленном перемешивании и температуре 38-42^{0}С в 1 см^3 метанола и строго определенного количества бидистиллированной воды, помещая колбу на ультразвуковую баню Количество добавляемой воды оставляет 145, 150 и 350 мм^3, соответственно для огурцов, томатов (томатного сока) и картофеля Операция растворения высушенного экстракта занимает достаточно длительное время (от одного до 2-х часов). Затем в колбу вносят порциями по 1 см^3 еще 4 см^3 метанола После прибавления каждой порции метанола содержимое колбы осторожно перемешивают, после прибавления последней порции колбу закрывают пришлифованной пробкой и помещают на ультразвуковую баню на 10 мин.

Полученный водно-метанольный раствор переносят в подготовленную по п. 7.3. колонку, дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. ЭТМ элюируют с колонки 60 $см^3$ смеси хлористый метилен-метанол (19:1, по объему), собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают при температуре не выше 50^0С почти досуха, затем продувают слабой струей сжатого воздуха или инертного газа досуха. Остаток растворяют в 2 $см^3$ бидистиллированной воды, помещая колбу на ультразвуковую баню. Раствор фильтруют при помощи набора для фильтрации проб (или через плотный тампон из стекловаты, помещенный в конусную воронку) и анализируют на содержание ЭТМ по п.п. 9.3.

9.3. Условия хроматографирования

9.3.1. Лук, виноград, виноградный сок

Хроматограф жидкостной с ультрафиолетовым детектором (Perkin-Elmer, США)

Колонка хроматографическая стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Spherisorb S5 ODS 2, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

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

Рабочая длина волны: 233 нм

Чувствительность: 0,02 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 мкл

Подвижная фаза: вода - метанол (99:1, по объему)

Ориентировочное время выхода ЭТМ: 4,6-4,9 мин

Линейный диапазон детектирования 0,2 – 2,0 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочные растворы с концентрацией 0,1 мкг/$см^3$, разбавляют бидистиллированной водой.

9.3.2. Огурцы, томаты, томатный сок, картофель

Хроматограф жидкостной с ультрафиолетовым детектором, модель 1100 (Agilent Technologies, США)

Колонка хроматографическая стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4.6 мм, содержащая Zorbax SB C18, зернением 5 мкм

Температура термостата колонки: 25^0С

Скорость потока элюента: 1 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 233 нм

Чувствительность: 0,007 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 50 мкл

Подвижная фаза: вода - метанол (99:1, по объему)

Ориентировочное время выхода ЭТМ: 4,5 мин

Линейный диапазон детектирования 0,5 – 10 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочные растворы с концентрацией 0,5 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой (п. 7.2).

10. Обработка результатов анализа

Содержание ЭТМ в пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A \times K)\,V}{m}, \text{ где}$$

X - содержание ЭТМ в пробе, мг/кг;

A - концентрация ЭТМ, найденная по градуировочному графику, мкг/см^3,

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

m - масса анализируемого образца, г.

K – коэффициент пересчета, учитывающий объем экстрактов проб, используемый для анализа, равный для лука, винограда и виноградного сока – 2, для огурцов, томатов, томатного сока, картофеля - 1.

11. Контроль погрешности измерений

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

12. Разработчики.

Юдина Т.В., Федороза Н.Е., Волкова В.Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана); Брагина И.В. (Федеральный центр госсанэпиднадзора) – лук, виноград, виноградный сок;

Белов М.Ю., Кулешова О.Ю. (ЗАО Фирма «Август») – огурцы, томаты, томатный сок, картофель.

gost.e-ecolog.ru