

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
метконазола в воде, почве, зерне, соломе
зерновых, семенах, масле рапса методом
капиллярной газожидкостной
хроматографии**

Методические указания
МУК 4.1.2407—08

Издание официальное

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

4.1. Методы контроля. Химические факторы

**Определение остаточных количеств метконазола
в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах,
масле рапса методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2407-08**

ББК 51.21

О-60

О-60 Определение остаточных количеств метконазола в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах, масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 19 с.

1. Разработаны Федеральным научным центром гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана (авторы Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н., Горячева Л.В.)

2. Рекомендованы к утверждению комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 3.07.2008 № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 17 июля 2008 г.

4. Введены в действие с 1 сентября 2008 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16

Печ. л. 1,25

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20.

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

© Роспотребнадзор, 2009

© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

УТВЕРЖДАЮ

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

Г.Г. Онищенко

17 июля 2008 г.

Дата введения: 1 сентября 2008 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы

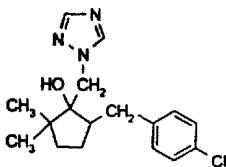
**Определение остаточных количеств метконазола
в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах,
масле рапса методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

Методические указания

МУК 4.1.2407-08

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения остаточных количеств метконазола в воде, почве, зерне, соломе зерновых, семенах и масле рапса в диапазонах 0,003 – 0,03 мг/дм³; 0,01 – 1,0 мг/кг; 0,05 – 0,5 мг/кг; 0,01 – 1,0 мг/кг и 0,075 – 0,75 мг/кг, соответственно.

(1RS,5RS;1RS,5SR)-5-(4-хлорбензил)-2,2-диметил-1-(1H-1,2,4-триazol-1-илметил) циклопентанол (IUPAC)



C₁₇H₂₂ClN₃O
Мол. масса 319.8

Смесь цис- и транс- изомеров. Кристаллический порошок белого цвета, без запаха. Технический продукт представляет собой смесь цис-

и транс- изомеров, в которой преобладает цис- метконазол (80:20). Плотность 1.4 (при 0 °С). Температура плавления 100-108 °С. Давление паров $1.23 \cdot 10^{-2}$ мПа (при 20 °С). Растворимость в воде 30.4 мг/см³ (при 20 °С, рН 7,5). Коэффициент распределения н-октанол – вода $K_{ow} \log P = 3,85$ (при 25 °С). Растворимость в органических растворителях (г/дм³, при 24 °С): этилацетат-260, метанол-403, ацетон-363, дихлорметан-481. Термически и гидролитически стабилен.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD₅₀) для крыс - 660 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD₅₀) для крыс - 2000 мг/кг, острая ингаляционная токсичность (LC₅₀) для крыс > 5,6 мг/дм³ (4 ч).

Область применения:

Метконазол – высокоэффективный системный фунгицид, проявляющий активность против фузариума, септорий, альтернарий, церкоспореллы, мучнистой росы, применяемый на озимом рапсе, озимой пшенице и яровом ячмене путем наземного опрыскивания в период вегетации.

Рекомендуемые гигиенические нормативы:

ПДК в воде водоемов - 0,006 мг/дм³ (общ.)

ОДК в почве – 0,2 мг/кг

ВМДУ зерне зерновых – 0,1 мг/кг

в семенах и масле рапса - 0,15 мг/кг

1. Погрешность измерений

При соблюдении всех регламентируемых условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерения 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/дм ³ , мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P=0,95 | Стандартное отклонение повторяемости, σ, % | Предел повторяемости, γ, % | Предел производительности, R, % |
|----------------------|--|---|--|----------------------------|---------------------------------|
| Вода | от 0,003 до 0,01 вкл. | 100 | 4,9 | 13,3 | 15,9 |

| | | | | | |
|--------------------|----------------------------|----|-----|------|------|
| | более 0,01 до 0,03 вкл. | 50 | 4,8 | 13,2 | 15,7 |
| Почва | более 0,1 до 1,0 вкл. | 25 | 6,1 | 16,8 | 20,0 |
| Солома зерновых | более 0,1 до 1,0 вкл. | 25 | 7,7 | 21,2 | 25,3 |
| Зерно зерновых | от 0,05 до 0,1 вкл. | 50 | 8,1 | 22,4 | 26,7 |
| | более 0,1 до 0,5 вкл. | 25 | 7,0 | 19,4 | 23,0 |
| Семена рапса | от 0,075 до 0,1 вкл. | 50 | 7,7 | 21,2 | 25,4 |
| | более 0,1 до 0,75 вкл. | 25 | 9,5 | 26,3 | 31,3 |
| Масло рапса | от 0,075 до 0,1 вкл. | 50 | 4,8 | 13,5 | 16,1 |
| | более 0,1 до 0,75 вкл. | 25 | 7,5 | 20,9 | 24,8 |

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

Таблица 2

| Анализируемый объект | Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$ | | | | |
|----------------------|--|--|--------------------------------|------------------------------|---|
| | Предел обнаружения, мг/дм ³ , мг/кг | Диапазон определяемых концентраций, мг/дм ³ , мг/кг | Среднее значение определения % | Стандартное отклонение, S, % | Доверительный интервал среднего результата, \pm , % |
| Вода | 0,003 | 0,003 – 0,03 | 87,39 | 3,7 | 2,0 |
| Почва | 0,1 | 0,1 - 1,0 | 86,29 | 3,8 | 2,1 |
| Солома зерновых | 0,1 | 0,1 - 1,0 | 87,13 | 5,0 | 2,7 |
| Зерно зерновых | 0,05 | 0,05 – 0,5 | 90,69 | 6,1 | 3,3 |
| Семена рапса | 0,075 | 0,075 – 0,75 | 88,33 | 6,8 | 3,9 |
| Масло рапса | 0,075 | 0,075-0,75 | 90,5 | 4,8 | 2,5 |

2. Метод измерений

Методика основана на определении метконазола с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) после экстракции из анализируемых проб семян и масла рапса ацетонитрилом, почвы, зерна и соломы зерновых – смесью ацетон-гексан, воды – дихлорметаном, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

| | |
|---|--|
| Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле $5 \cdot 10^{-13}$ г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой | Номер в Государственном реестре средств измерений 14516-95 |
| Весы аналитические ВЛА-200 | ГОСТ 24104 |
| Меры массы | ГОСТ 7328 |
| Микрошприц типа МШ-1М, вместимостью 1 мм ³ | ТУ 2.833.105 |
| Колбы мерные 2-100-2 и 2-500-2 вместимостью 100 и 500 см ³ | 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 25, 50, 100, 250 и 1000 см ³ | ГОСТ 1770 |

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

транс-Метконазол, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,1%, (фирма «BASF»)

цис-Метконазол, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,3%, (фирма «BASF»)

Азот особой чистоты, из баллона

ГОСТ 9293

| | |
|---|--------------------|
| Ацетонитрил, осч «УФ-210 нм» | ТУ 6-09-14-2167-84 |
| Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$ | ГОСТ 6790 |
| Метилен хлористый (дихлорметан), хч | ГОСТ 12794 |
| Метиловый спирт (метанол), хч | ГОСТ 6995 |
| Натрий сернокислый безводный, хч | ГОСТ 4166-78 |
| Натрий хлористый, хч | ГОСТ 4233 |
| н-Гексан, хч | ТУ 6-09-4521-77 |
| Силикагель, «Silica gel 60» для колоночной хроматографии (0,2-0,5 мм) | |
| Этиловый эфир уксусной кислоты, ректифицированный | ГОСТ 22300 |
| Эфир диэтиловый (для наркоза) | Фармакопея СССР |

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

| | |
|--|-----------------|
| Аппарат для встряхивания типа АБУ-6с | ТУ 64-1-2851-78 |
| Баня водяная | |
| Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария) | |
| Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ | ТУ 6-09-2678-77 |
| Воронка Бюхнера | ГОСТ 0147 |
| Воронки делительные вместимостью 100, 250, 500 и 1000 см ³ | ГОСТ 9737 |
| Воронки конусные диаметром 40-45 мм | ГОСТ 25336 |
| Генератор водорода | |
| Груша резиновая | |
| Колба Бунзена | ГОСТ 56145 |
| Колбы плоскодонные вместимостью 250 см ³ | ГОСТ 9737 |
| Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 100, 250 и 500 см ³ | ГОСТ 9737 |
| Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10-12 мм | |
| Компрессор | |
| Мельница лабораторная электрическая | ТУ 46-22-236-79 |
| Насос водоструйный вакуумный | ГОСТ 10696 |
| Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок | |

МУК 4.1.2407-08

лок не менее 50

Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария

Стаканы химические с носиком, вместимостью 100 и 150 ГОСТ 25336 см³

Сито с диаметром отверстий 1мм

Стекловата

Стекллянные палочки

Установка для перегонки растворителей

Хроматографическая колонка капиллярная ZB-50, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм

Допускается применение 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 по 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 ± 5) °С и относительной влажности не более 80%.
- выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, градуировочных растворов и растворов внесения, установление градуировочных характеристик, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения метконазола на колонке.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты, до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.2. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 50.

7.1.3. 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.

7.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1. Исходный раствор цис-метконазола для градуировки (концентрация 250 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают $0,025 \text{ г}$ цис-метконазола, растворяют в $50 - 60 \text{ см}^3$ этилацетата, доводят этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

7.2.2. Исходный раствор транс-метконазола для градуировки (концентрация 250 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,025 г транс-метконазола, растворяют в 50 - 60 см³ этилацетата, доводят этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Растворы хранят в морозильной камере при температуре < -15 °С в течение месяца.

7.2.3. Раствор № 1 цис-метконазола для градуировки (концентрация 10 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 4 см³ исходного раствора цис-метконазола с концентрацией 250 мкг/см³ (п. 7.2.1.), разбавляют этилацетатом до метки.

7.2.4. Раствор № 2 транс-метконазола для градуировки (концентрация 10 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 4 см³ исходного раствора транс-метконазола с концентрацией 250 мкг/см³ (п. 7.2.2), разбавляют этилацетатом до метки.

Градуировочный раствор № 1 и 2 хранят в морозильной камере при температуре < -15 °С в течение месяца. Эти растворы используют для установления времени удерживания каждого изомера при хроматографировании.

7.2.5. Раствор № 3 цис-метконазола и транс-метконазола для градуировки (концентрация по 25 мкг/см³ каждого изомера). В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают по 5 см³ исходных растворов цис- и транс-метконазола с концентрацией 250 мкг/см³ (п.п. 7.2.1 и 7.2.2), разбавляют этилацетатом до метки.

Раствор № 3 хранят в морозильной камере при температуре < -15°С в течение 30-ти дней.

7.2.6. Рабочие растворы № 4 - 7 цис-метконазола и транс-метконазола для градуировки и внесения (концентрация по 2.5 - 0.25 мкг/см³ каждого изомера). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1.0; 2.0; 4.0 и 10.0 см³ градуировочного раствора № 3 с концентрацией 25 мкг/см³ (п. 7.2.5.), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 4 - 7 с концентрацией цис- и транс-метконазола по 0.25, 0.5, 1.0 и 2.5 мкг/см³ каждого изомера, соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4-6 °С в течение 14-ти дней.

7.3. Приготовление растворов внесения

7.3.1. Исходные растворы цис- и транс-метконазола для внесения (концентрация 100 мкг/см³ каждого изомера). В мерную колбу вме-

стимостью 100 см³ помещают по 0,01г цис- и транс-метконазола, растворяют в 50 - 60 см³ метанола (этилацетата), доводят метанолом (этилацетатом) до метки, тщательно перемешивают.

Растворы хранят в морозильной камере при температуре < -15 °С в течение месяца.

7.3.2. Растворы № 1 и 2 цис-метконазола и транс-метконазола для внесения (концентрация 5 мкг/см³ каждого изомера). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 5 см³ исходного раствора цис- и транс- метконазола с концентрацией 100 мкг/см³ каждого изомера (п.п. 7.3.1), разбавляют метанолом (этилацетатом) до метки.

Растворы № 1 и 2 хранят в морозильной камере при температуре < -15 °С в течение месяца.

Раствор в метаноле (№ 1) используют для приготовления проб воды, почвы, зерна и соломы зерновых с внесением при оценке полноты извлечения метконазола методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

Раствор в этилацетате (№ 2) используют для приготовления проб семян и масла рапса с внесением при оценке полноты извлечения метконазола методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.4. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика (мВ·сек) от концентраций цис- и транс- изомеров метконазола в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площади пиков двух изомеров метконазола.

Градуировочные графики проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значения площадей отличаются более, чем на 16% от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.5. Приготовление 7,5 % раствора хлорида натрия

В мерную колбу вместимостью 500 см³ помещают 40,5 г хлористого натрия, растворяют в 250-300 см³ деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.6. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 4 г силикагеля в 20 см³ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия массой 1 г. Колонка готова к работе.

7.7. Проверка хроматографического поведения метконазола на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,5 см³ раствора № 1 метконазола для внесения с концентрацией 5 мкг/см³ каждого изомера (п. 7.3.6 или 7.3.6), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 0,5 см³ этилацетата, помещают на ультразвуковую баню на 1 мин, добавляют 5 см³ гексана, перемешивают и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают 2,0 см³ смеси гексан-этилацетат, которые также наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 40 см³ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), 30 см³ смеси гексан - этилацетат (1:1, по объему), элюаты отбрасывают.

Затем колонку промывают 60 см³ этилацетата и 30 см³ смеси этилацетат-метанол (3:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек. Фракционно (по 15 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см³ этилацетата, анализируют содержание метконазола 9.5.

Фракции, содержащие метконазол, объединяют и вновь анализируют.

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

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

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями: вода - ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», почва - ГОСТ 1743.01-83 «Почва, общие требования к отбору проб», ГОСТ 26950-89 «Почвы. Отбор проб», зерно - ГОСТ 13586.3-83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р 50436-92 «Зерновые. Отбор проб зерна», солома - ОСТ 27262-87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб» рапс - ГОСТ 10583-76 «Рапс. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 8988-2002 «Масло рапсовое. Технические условия» и Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051 - 79 от 21.08.79 г).

Отобранные пробы воды, почвы, зерна и соломы зерновых, семян рапса хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более недели. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре -18°C .

Пробы масла хранят в закрытой стеклянной при температуре $4-6^{\circ}\text{C}$ в темноте.

Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, почвы - просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, зерно и солому зерновых, семена рапса измельчают на лабораторной мельнице.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

9.1.1. Экстракция

Образец отфильтрованной воды объемом 250 см^3 помещают делительную воронку на 500 см^3 , добавляют 75 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После разделения фаз нижний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 500 см^3 . Операцию экстракции водной фазы повторяют дважды, используя по 75 см^3 хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 35 °С и подвергают дополнительной очистке по п. 9.1.2.

9.1.2. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Остаток, полученный по п. 9.1.1, 9.2.2 или 9.3.2, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 0,5 см³ этилацетата, помещая на ультразвуковую баню на 1 мин, добавляют 5 см³ гексана, перемешивают. Затем раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды гексаном порциями по 2,5 см³, которые также наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 50 см³ гексана, 20 см³ смеси гексан-этилацетат (9:1 по объему), элюаты отбрасывают.

Метконазол элюируют с колонки 60 см³ этилацетата и 30 см³ смеси этилацетат-метанол (3:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150-250 см³, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 1,5 см³ этилацетата (исследование воды), 4 см³ этилацетата (исследование почвы), 2 см³ этилацетата (исследование зерна зерновых), 1 см³ этилацетата (исследование соломы зерновых), 3 см³ этилацетата (исследование семян и масла рапса) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.2. Почва, зерно, солома

9.2.1. Экстракция

Образцы почвы, измельченного зерна массой 20 г, соломы массой 5 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см³, вносят 50 см³ (для соломы - 75 см³) смеси ацетон-гексан (1:1, по объему), помещают на встряхиватель на 1 час. Полученный экстракт (надосадочная жидкость) осторожно декантируют, фильтруют на воронке Бюхнера через двойной бумажный фильтр «красная лента» под вакуумом. Осадок на фильтре возвращают в колбу и повторяют экстракцию дополнительной порцией смеси объемом 30 см³ (для соломы 50 см³), выдерживая на встряхивателе 20 мин. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через бумажный фильтр «красная лента», осадок на фильтре промывают 10 см³ этой же смеси.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в делительную воронку на 500 см³ (для соломы - 1000 см³) и проводят очистку экстракта по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К экстракту, полученному по п. 9.2.1 и помещенному в делительную воронку, добавляют 120 см³ (солома - 160 см³) 7,5 % раствора хлорида натрия и 50 см³ этилацетата, интенсивно встряхивают в течение 2-3 мин. После разделения фаз верхний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 250 см³. Операцию экстракции водной фазы повторяют, используя 50 см³ этилацетата. Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 35 °С и подвергают дополнительной очистке по п. 9.1.2.

Очищенную пробу перед хроматографированием растворяют при исследовании проб почвы в 4 см³ этилацетата, зерна – 2 см³, соломы – 1 см³ и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.3. Семена рапса

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных семян массой 20 г помещают в коническую колбу вместимостью 250 см³, вносят 50 см³ ацетонитрила и помещают на встряхиватель на 1 ч. Полученный экстракт (надосадочная жидкость) фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной бумажный фильтр «красная лента». Осадок возвращают в коническую колбу и повторяют экстракцию дополнительной порцией ацетонитрила объемом 30 см³, выдерживая на встряхивателе 20 мин. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через бумажный фильтр «красная лента», осадок на фильтре промывают 10 см³ ацетонитрила. Объединенный отфильтрованный экстракт подвергают очистке по п. 9.3.2.

9.3.2 Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Объединенный отфильтрованный экстракт, полученный по п. 9.3.1 или 9.4.1., переносят в делительную воронку вместимостью 250 см³,

добавляют 25 см³ гексана (насыщенного ацетонитрилом), интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, перенося в коническую колбу. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильную фазу вновь переносят в делительную воронку и повторяют операцию промывки, используя 25 см³ гексана (насыщенного ацетонитрилом). Ацетонитрильный раствор переносят в круглодонную колбу вместимостью 150 см³, упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°C и подвергают очистке на колонке с силикагелем по п. 9.2.1. Очищенную пробу перед хроматографированием растворяют в 3 см³ этилацетата и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.4. Масло рапса

9.4.1. Экстракция и очистка экстракта в системе несмешивающихся растворителей

Образец масла массой 10 г растворяют в 70 см³ гексана и помещают в делительную воронку на 500 см³, вносят 30 см³ ацетонитрила (насыщенного гексаном) и интенсивно встряхивают в течение 5 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой осторожно декантируют через бумажный фильтр, помещенный в конусную воронку, в коническую колбу вместимостью 150-200 см³. Экстракцию пробы масла повторяют дважды дополнительными порциями ацетонитрила (насыщенного гексаном) объемом 25 см³.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в делительную воронку на 250 см³, добавляют 25 см³ гексана (насыщенного ацетонитрилом) и подвергают очистке по последовательно п.п. 9.3.2 и 9.1.2. Очищенную пробу перед хроматографированием растворяют в 1,5 см³ этилацетата и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.

9.5 Условия хроматографирования

Хроматограф газовый «Кристалл-2000М» с термоионным детектором.

Колонка капиллярная ZB-50, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм

Температура детектора: 350 °С
испарителя: 280 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 150 °С, выдержка 1.3 мин, нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 280 °С, выдержка 13.1 мин.

Скорость газа 1 (азот): 22.3 см/сек, давление 80 кПа, поток 0.67 см³/мин.

Газ 2: деление потока 1 : 13.4; сброс 8.9 см³/мин.

Водород: 12,5 см³/мин.

Воздух: 200 см³/мин.

Хроматографируемый объем: 1 мм³

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков, с помощью градуировочных графиков определяют концентрацию цис- и транс- изомеров метконазола в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочные растворы цис- транс- метконазола с концентрацией 2,5 мкг/см³, разбавляют этилацетатом, но не более чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание метконазола в пробах воды, почвы, зерна, соломы зерновых, семян и масла рапса (X , мг/дм³, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(C_1 + C_2) \cdot V}{m}, \text{ где}$$

X - содержание метконазола в пробах воды, почвы, зерна, соломы зерновых, семян и масла рапса, мг/дм³ и мг/кг;

C_1 и C_2 – концентрации цис- и транс- метконазола, найденные по градуировочным графикам в соответствии с величинами площадей хроматографических пиков, мкг/см³;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m – объем (масса) анализируемого образца, см³ (г).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r, \text{ где}$$

X_1, X_2 - результаты параллельных определений, мг/дм³, мг/кг;

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

При невыполнении условия выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$$(\bar{X} \pm \Delta) \text{ мг/дм}^3 \text{ или мг/кг при вероятности } P=0.95,$$

где \bar{X} - среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/дм³ или мг/кг;

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/дм³ или мг/кг;

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

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

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание метконазола в пробе воды менее 0,003 мг/дм³, почвы, соломы зерновых – менее 0,1 мг/кг, зерна зерновых – 0,05 мг/кг, семян и масла рапса – менее 0,075 мг/кг»**

** - 0,003 мг/дм³, 0,1 мг/кг, 0,05 мг/кг и 0,075 мг/кг - пределы обнаружения в воде, почве, соломе зерновых, зерне зерновых, семенах и масле рапса, соответственно.*

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_d должна удовлетворять условию:

$$C_d \geq \Delta_{\bar{x}} + \Delta_{\bar{x}'},$$

где $\pm \Delta_{x,\bar{x}}(\pm \Delta_{x,\bar{x}})$ – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/дм³ или мг/кг, при этом:

$$\Delta_{\text{л}} = \pm 0,84 \Delta, \text{ где}$$

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм³ или мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $K_{\text{к}}$ рассчитывают по формуле:

$$K_{\text{к}} = \bar{X}' - \bar{X} - C_0,$$

где \bar{X}' , \bar{X} , C_0 – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/дм³ или мг/кг;

Норматив контроля K рассчитывают по формуле

$$K = \sqrt{\Delta_{x,\bar{x}}^2 + \Delta_{x,\bar{x}}^2}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_{\text{к}}$) с нормативом контроля (K).

Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию

$$|K_{\text{к}}| \leq K, \quad (1)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (1) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (1) 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)

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq R, \text{ где}$$

X_1 , X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/дм³ или мг/кг;

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