

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 4.1.2076—4.1.2088—06

Издание официальное

Москва, 2009

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

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

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2076—4.1.2088—06

Издание официальное

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 — 188с.

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

Тираж 100 экз.

Печ. л. 11,75

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 глифосинат аммония и его метаболита в зерне гороха газохроматографическим методом. МУК 4.1.2076-06..... | 4 |
| 2. Методические указания по измерению концентраций дикамбы в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2077-06..... | 22 |
| 3. Методические указания по определению остаточных количеств квинклорака в зерне риса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2078-06..... | 35 |
| 4. Методические указания по определению остаточных количеств квинклорака в зерне риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2079-06..... | 49 |
| 5. Методические указания по определению остаточных количеств лиофсурона в томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2080-06..... | 62 |
| 6. Методические указания по определению остаточных количеств метамитрона в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной, столовой и кормовой свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2081-06..... | 72 |
| 7. Методические указания по определению остаточных количеств Трибенурон-метила в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2082-06..... | 87 |
| 8. Методические указания по определению остаточных количеств тиаметоксама в семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2083-06..... | 106 |
| 9. Методические указания по определению остаточных количеств тебуконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2084-06..... | 120 |
| 10. Методические указания по измерению концентраций тринексапак-этила в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2085-06..... | 132 |
| 11. Методические указания по определению остаточных количеств тринексапак-этила и его основного метаболита тринексапаку-кислоты в воде, тринексапак-этила по метаболиту тринексапаку-кислоте в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2086-06..... | 142 |
| 12. Методические указания по определению остаточных количеств Альфа-циперметрина в семенах и масле рапса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2087-06..... | 162 |
| 13. Методические указания по измерению концентраций эсфенвалерата в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2088-06..... | 176 |

УТВЕРЖДАЮ

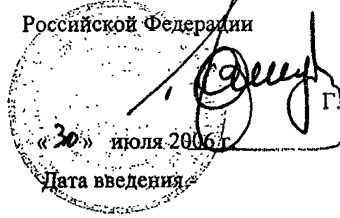
Руководитель Федеральной службы

по надзору в сфере защиты прав

потребителей и благополучия человека,

Главный государственный санитарный врач

Российской Федерации



Г.Г. Онищенко

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ МЕТАМИТРОНА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, БОТВЕ И КОРНЕПЛОДАХ САХАРНОЙ, СТОЛОВОЙ И КОРМОВОЙ СВЕКЛЫ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОЙ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

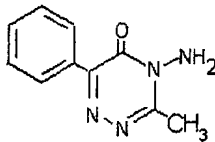
МУК 4.1.²⁰⁸¹-06

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации метамитрона в воде в диапазоне 0,01-0,1 мг/дм³, в почве - 0,05-0,5 мг/кг, в ботве - 0,03-0,3 мг/кг и в корнеплодах сахарной, столовой и кормовой свеклы в диапазоне 0,015-0,15 мг/кг.

Метамитрон – действующее вещество гербицида Пилот, ВСК (700 г/л), фирма производитель ЗАО фирма «Август» (Российская Федерация).

4-амино-4,5-дигидро-3-метил-6-фенил-1,2,4-триазин-5-он (ИЮПАК)

4-амино-3-метил-6-фенил-1,2,4-триазин-5(4H)-он (С.А.)



$C_{10}H_{10}N_4O$

Мол. масса: 202,2

Желтоватое кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления: 166,9°C. Давление паров при 25°C: 2×10^{-3} мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: $K_{ow} \log P = 0,83$. Растворимость (г/дм³) при 20°C: дихлорметан – 30-50, хлороформ – 29, метанол – 23, изопропанол – 5,7, толуол – 2,8, гексан – менее 0,1, вода – 1,7.

Вещество высокостабильно в кислой среде, но разлагается сильными щелочами (рН>10): DT₅₀ = 410 дней (рН 4), 740 час. (рН 7), 230 час. (рН9).

Метамитрон быстро разрушается в воде и на поверхности почвы.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD₅₀) для крыс – 1200, для мышей – 650 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD₅₀) для крыс – более 4000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC₅₀) для крыс – более 330 мг/м³ воздуха. LC₅₀ для рыб 326-443 мг/дм³ (96 час.). Гербицид нетоксичен для птиц, пчел и диких животных.

Гигиенические регламенты применения метамитрона: ОДК в почве – 0,4 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,3 мг/дм³; МДУ в свекле сахарной и столовой – 0,03 мг/кг.

Область применения препарата

Метамитрон – системный гербицид, поглощается корнями и в меньшей степени листьями растений и транспортируется в акропетальном направлении. Применяется для борьбы с однолетними злаковыми и широколиственными сорняками в посевах сахарной, столовой и кормовой свеклы путем допосевного или довсходового внесения или опрыскивания вегетирующих растений.

Зарегистрирован в России под торговым названием Пилот, ВСК (700 г/л) в качестве средства борьбы с сорняками на посевах сахарной, столовой и кормовой свеклы с нормой расхода препарата не более 2 кг/га при одно- или двукратной обработке (опрыскивание посевов по всходам сорняков с последующей обработкой через 8-14 дней при повторном отрастании сорняков).

1. Метрологические характеристики метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности $P=0,95$ не превышает значений, приведенных в таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

| Анализируемый объект | Диапазон определяемых концентраций мг/дм ³ , мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P=0,95 | Стандартное отклонение повторяемости σ _r , % | Предел повторяемости, г, % | Предел воспроизводимости, R, % |
|----------------------------|---|--|--|-------------------------------|-----------------------------------|
| Вода | более 0,01 до 0,1 вкл. | 50 | 3,1 | 8,7 | 13,5 |
| Почва | от 0,05 до 0,1 вкл. | 50 | 4,0 | 11,2 | 17,3 |
| | более 0,1 до 0,5 | 25 | 2,5 | 6,9 | 10,7 |
| Ботва столовой свеклы | от 0,03 до 0,1 вкл. | 50 | 3,6 | 10,1 | 15,6 |
| | более 0,1 до 0,3 | 25 | 2,8 | 7,8 | 12,1 |
| Корнеплоды столовой свеклы | от 0,015 до 0,1 вкл. | 50 | 3,0 | 8,4 | 13,4 |
| | более 0,1 до 0,15 | 25 | 2,4 | 6,7 | 10,5 |
| Корнеплоды сахарной свеклы | от 0,015 до 0,1 вкл. | 50 | 3,2 | 9,0 | 14,0 |
| | более 0,1 до 0,15 | 25 | 1,9 | 5,3 | 8,3 |
| Корнеплоды кормовой свеклы | от 0,015 до 0,1 вкл. | 50 | 2,9 | 8,1 | 12,6 |
| | более 0,1 до 0,15 | 25 | 2,2 | 6,2 | 10,0 |

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

Таблица 2

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

| Анализируемый объект | Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20 | | | | |
|----------------------|--|--|-----------------------------------|---------------------------------|--|
| | Предел обнаружения, мг/дм ³ , мг/кг | Диапазон определяемых концентраций мг/дм ³ , мг/кг | Среднее значение определения % | Стандартное отклонение, S, % | Доверительный интервал среднего результата, ± % |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Вода | 0,01 | 0,01 – 0,1 | 90,1 | 2,8 | ±2,6 |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------------------------|-------|------------|------|-----|------|
| Почва | 0,05 | 0,05-0,5 | 85,8 | 4,9 | ±4,6 |
| Ботва столовой свеклы | 0,03 | 0,03-0,3 | 82,7 | 3,7 | ±3,8 |
| Корнеплоды столовой свеклы | 0,015 | 0,015-0,15 | 84,5 | 4,2 | ±4,0 |
| Корнеплоды сахарной свеклы | 0,015 | 0,015-0,15 | 87,7 | 3,4 | ±3,2 |
| Корнеплоды кормовой свеклы | 0,015 | 0,015-0,15 | 83,7 | 3,7 | ±3,8 |

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электрозахватным детектором (ЭЗД). Контроль метамитрона в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из воды хлористым метиленом, из почвы водным ацетоном, из ботвы и корнеплодов свеклы ацетоном, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства,

реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

| | |
|--|--------------------------------|
| Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ЭЗД (СКБ «Хроматэк», Россия) | Номер Госреестра № 14516-95 |
| Весы аналитические ВЛА-200 | ГОСТ 24104 |
| Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,036 г | ГОСТ 7328 |
| Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2 | ГОСТ 1770 |
| Меры массы | ГОСТ 7328 |

| | |
|---|------------|
| Пипетки градуированные 2-го класса точности емкостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 см ³ | ГОСТ 29227 |
| Пробирки градуированные с шлифованной пробкой емкостью 5 см ³ | ГОСТ 1770 |
| Цилиндры мерные 2-го класса точности емкостью 25, 50, 100, 500 и 1000 см ³ | ГОСТ 1770 |

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Метамитрон, аналитический стандарт фирмы Байер (Германия) с содержанием д.в. 99,5 %

| | |
|--|-----------------|
| Ацетон, чда | ГОСТ 2603-79 |
| Ацетонитрил, хч | ТУ 6-09-3534-87 |
| Вода бидистиллированная или деионизованная | ГОСТ 7602 |
| n-Гексан, хч | ТУ 6-09-3375 |
| Метилен хлористый (дихлорметан), хч | ГОСТ 12794 |
| Натрий сернокислый, безводный, хч | ГОСТ 4166 |
| Натрий хлористый, хч | ГОСТ 4233 |
| Этиловый эфир уксусной кислоты, ч | ГОСТ 22300 |

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

| | |
|---|-----------------|
| Азот газообразный (баллон), осч | ГОСТ 9293 |
| Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с | ТУ 64-1-2851-78 |
| Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США) | |
| Воронка Бюхнера | ГОСТ 0147 |
| Воронки делительные емкостью 100 и 250 см ³ | ГОСТ 25336 |
| Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм | ГОСТ 25336 |
| Гомогенизатор | МРТУ 42-1505 |
| Дефлегматор елочный | ГОСТ 9737 |
| Колба Бунзена | ГОСТ 5614 |
| Колбы плоскодонные емкостью 250 см ³ | ГОСТ 9737 |
| Колбы круглодонные на шлифе емкостью 25 и 100 см ³ | ГОСТ 9737 |
| Колонка кварцевая капиллярная ZB-50, длиной 30 м, внутренним | |

| | |
|--|-------------------------|
| диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза OV-17, фирма Phenomenex (США) или аналогичная | |
| Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8-10 мм | ГОСТ 9737 |
| Насос водоструйный вакуумный | ГОСТ 10696 |
| Патроны концентрирующие Диапак С8 (0,6 г), ЗАО БиоХимМак СТ (Москва, Воробьевы горы, МГУ) | ТУ 4215-002-05451931-94 |
| Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария) | ТУ 25-11-917 |
| Силикагель для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) I степени активности | |
| Стаканы химические вместимостью 100 и 500 см ³ | ГОСТ 25336 |
| Стекловата | |
| Установка для перегонки растворителей | |
| Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ | ТУ 6-09-2678-77 |
| Шприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1 - 10 мм ³ (Hamilton, США) | |

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

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

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

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

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 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, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка n-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания последней в желтый цвет, затем 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.

7.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 л ацетона 10 г KMnO_4 и 2 г K_2CO_3).

7.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель I степени активности встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130°C в течение 3 часов.

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

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом

кране) суспензию 3 г силикагеля I степени активности в 15 см³ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 см³ смеси гексан-ацетон (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 10 см³ метанола, 5 см³ ацетонитрила и 5 см³ смеси ацетонитрил-вода (2:8, по объему) со скоростью 5 см³/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения метамитрона на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,1 см³ градуировочного раствора № 1 метамитрона с концентрацией 10 мкг/см³ в этилацетате (п. 7.5.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 3 см³ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 30 см³ смеси гексан-ацетон (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку с силикагелем промывают 40 см³ смеси гексан-ацетон (7:3, по объему). Фракционно (по 10 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см³ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание метамитрона по п.9.5.

7.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку ZB-50 (типа OV-17) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280⁰С и скорости газа-носителя 2 см³/мин в течение 8-10 часов.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходный раствор метамитрона для градуировки (концентрация 100 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,010 г метамитрона, растворяют в 40-50 см³ этилацетата, доводят этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше -18⁰С в течение 3-х месяцев.

7.5.2. Раствор метамитрона №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см³).

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ исходного раствора метамитрона с концентрацией 100 мкг/см³ (п.7.6.1.), разбавляют этилацетатом до метки.

Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб воды, почвы, ботвы и корнеплодов с внесением при оценке полноты извлечения метамитрона из исследуемых образцов используют ацетоновый раствор метамитрона с концентрацией 10 мкг/см³.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор метамитрона хранят в морозильной камере при температуре не выше -18°C в течение месяца.

7.5.3. Рабочие растворы №№ 2-5 метамитрона для градуировки (концентрация 0,1-1,0 мкг/см³).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают 1,0, 2,0, 5,0 и 10,0 см³ градуировочного раствора № 1 метамитрона с концентрацией 10 мкг/см³ (п.7.5.2), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией метамитрона 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мкг/см³, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мВ) от концентрации метамитрона в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм³ каждого градуировочного раствора (п.7.5.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТами Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», 1743.01-83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», 26950-89 «Почвы. Отбор проб», 17421-82 «Свекла сахарная для промышленной переработки. Требования при заготовках»,

Пробы воды анализируют в день отбора или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре -18°C не более 4-х недель.

Образцы почвы подсушивают на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре $4-6^{\circ}\text{C}$ не более 4-х недель. Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре -18°C .

Пробы ботвы и корнеплодов свеклы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более одного дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре -18°C до анализа.

Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, образцы почвы просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм, а ботву и корнеплоды измельчают ножом или на терке.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция метамитрона

9.1.1. *Вода.* Образец отфильтрованной воды объемом 100 см^3 помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3 . В воронку вносят 50 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3 . Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 25 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30°C . Остаток в колбе растворяют в 10 см^3 этилацетата и анализируют на содержание метамитрона по п.9.5.

9.1.2. *Почва.* Образец воздушно-сухой почвы массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3 , добавляют 50 см^3 деионизованной воды, перемешивают и оставляют стоять в течение 15 мин. К суспензии приливают 50 см^3 ацетона и колбу помещают на встряхиватель на 1 час. Раствор (с осадком почвы) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3 . Осадок на фильтре промывают 50 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и $\frac{1}{2}$ его часть (эквивалентную 10 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 . Далее проводят очистку экстракта по п.9.2.

9.1.3. *Ботва и корнеплоды.* Образец измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3 , добавляют 100 см^3 ацетона и гомогенизируют 3 мин. при 10000 об/мин. Раствор (с осадком) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3 . Осадок на фильтре промывают 50 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают $\frac{1}{4}$

объема экстракта ботвы (эквивалентна 5 г образца) и $\frac{1}{2}$ объема экстракта корнеплодов (эквивалентна 10 г образца) и переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см³. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракт, полученный по пп. 9.1.2. и 9.1.3. и помещенный в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (5-10 см³) при температуре не выше 40⁰С. К водному остатку прибавляют 10 см³ деионизованной воды, 15 см³ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см³. В воронку вносят 40 см³ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 150 см³. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 30 см³ хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30⁰С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8 по пп.9.3. и 9.4.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2., растворяют в 0,6 см³ ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,4 см³ гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку; подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 3 см³ смеси гексан-ацетон (8:2, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 30 см³ смеси гексан-ацетон (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Метамитрон элюируют с колонки 30 см³ смеси гексан-ацетон (7:3, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см³. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30⁰С. Сухой остаток экстракта почвенного образца и корнеплодов растворяют соответственно в 5 и 1,5 см³ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание метамитрона по п. 9.5. Экстракт ботвы дополнительно очищают с помощью концентрирующего патрона Диапак С8.

9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак С8

Сухой остаток экстракта ботвы, полученный по п.9.3., растворяют в 0,4 см³ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 1,6 см³

деионизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на концентрирующий патрон, подготовленный по п.7.2., элюат отбрасывают. Метамитрон элюируют с патрона 6 см³ смеси ацетонитрил-вода (3:7, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 25 см³. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40⁰С. Остаток в колбе растворяют в 1,5 см³ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание метамитрона по п.9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с электрозахватным детектором с пределом детектирования не выше $2,82 \times 10^{-14}$ г/с.

Колонка капиллярная кварцевая ZB-50, длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза OV-17, фирма Phenomenex (США)

Температура термостата испарителя – 290⁰С, детектора – 300⁰С, термостата колонки (программа: от 200⁰С со скоростью 10⁰/мин до 270⁰С (10 мин.); со скоростью 10⁰/мин до 280⁰С (2 мин.)

Расход газов: газа-носителя (азот) – 3,0 см³/мин; поддувочного газа через детектор – 25 см³/мин

Деление потока: 1:2

Время удерживания метамитрона: 12 мин.15 сек

Объем вводимой пробы: 1 мм³.

Линейный диапазон детектирования: 0,1 – 2,0 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят 3 раза и вычисляют среднюю высоту хроматографического пика метамитрона.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 1,0 мкг/см³, разбавляют этилацетатом.

10. Обработка результатов анализа

Содержание метамитрона рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание метамитрона в пробе, мг/дм³; мг/кг;

H₁ - высота пика образца, мВ;

H₀ – высота пика стандарта, мВ;

A - концентрация стандартного раствора метамитроа, мг/см³;
 V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;
 m - масса анализируемой части образца (см³, г) / для воды – 100 см³, для ботвы – 5 г, для почвы и корнеплодов - 10 г/.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (1):

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

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

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

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм³);

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

менее 0,01 мг/дм³ для воды, менее 0,05 мг/кг для почвы**, менее 0,03 мг/кг для ботвы***, менее 0,015 мг/кг для корнеплодов****.*

** - 0,01 мг/дм³ - предел обнаружения для воды,*

*** - 0,05 мг/кг - предел обнаружения для почвы,*

**** - 0,03 мг/кг - предел обнаружения для ботвы,*

***** - 0,015 мг/кг - предел обнаружения для корнеплодов.*

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 внутрिलाбораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки C_0 должна удовлетворять условию:

$$C_0 = \Delta_{a,\bar{X}} + \Delta_{a,\bar{X}'},$$

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

$$\Delta_n = \pm 0,84 \Delta,$$

где Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм³);

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

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

Результат контроля процедуры K_K рассчитывают по формуле:

$$K_K = \bar{X}' - \bar{X} - C_0,$$

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/кг (дм³);

Норматив контроля K рассчитывают по формуле

$$K = \sqrt{\Delta_{a,\bar{X}'}^2 + \Delta_{a,\bar{X}}^2}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры (K_K) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_K| \leq K, \quad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq R \quad (3)$$

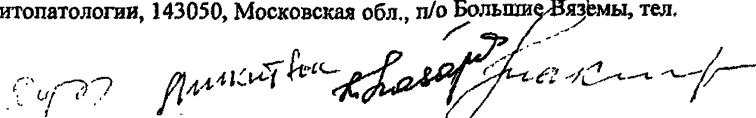
где X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг (дм^3);

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

14. Разработчики

Дубовая Л.В.; Микитюк О.Д., к.б.н.; Назарова Т.А., к.б.н.; Макеев А.М., к.б.н.

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



Подпись руки Дубовой Л.В., Микитюка О.Д., Назаровой Т.А. и Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ



(Банюлис Г.Г.)