

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
глюфосината аммония и его метаболита
в клубнях картофеля методом
капиллярной газожидкостной
хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.3205—14**

Издание официальное

Москва • 2015

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
глюфосината аммония и его метаболита
в клубнях картофеля методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.3205—14**

ББК 51.23

О60

О60 **Определение остаточных количеств глүфосината аммония и его метаболита в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания. —М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—26 с.**

ISBN 978—5—7508—1394—0

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, Т. С. Калинина).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 26 июня 2014 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 30 июля 2014 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1394—0

© Роспотребнадзор, 2015

© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015

Температура плавления: 215 °С.

Давление паров (при 20 °С): более 0,1 мПа.

Коэффициент распределения октанол/вода: $K_{ow} \log P < 0,1$.

Растворимость в воде (г/дм³, при 22 °С): 1 370.

Растворимость (г/дм³, при 20 °С): ацетон – 0,16, этанол – 0,65, этилацетат, толуол – 0,14, н-гексан – 0,2.

Вещество стабильно при нормальных условиях хранения, не гидролизует в умеренно кислых и щелочных средах.

Достаточно быстро разрушается в воде и почве: DT₅₀ в воде и почве – 3—20 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Глюфосинат аммония относится к мало опасным веществам по острой пероральной (ЛД₅₀ для крыс – от 1 620 до 2 000 мг/кг) и дермальной токсичности (ЛД₅₀ для крыс более 4 000 мг/кг), но к опасным веществам по ингаляционной токсичности (ЛК₅₀ для крыс (4 ч) от 1 260 до 2 600 мг/м³).

Глюфосинат аммония не обладает тератогенным, канцерогенным и мутагенным действием. Малотоксичен для рыб, водорослей, дафний, дождевых червей, пчел, птиц и диких животных.

Область применения. Глюфосинат аммония (I) – десикант и неселективный контактный гербицид с ограниченной системностью, передвигающийся только внутри обработанных листьев. В процессе поступления в растение вещество диссоциирует и в клетках присутствует только глюфосинат свободная кислота (II). Гербицид используется для уничтожения однолетних и многолетних широколистных и злаковых сорняков в парах, посадках плодовых и цитрусовых культур, ягодных кустарников и виноградниках путем направленного опрыскивания в период активного роста сорных растений, а также на овощных культурах при довсходовом применении препарата.

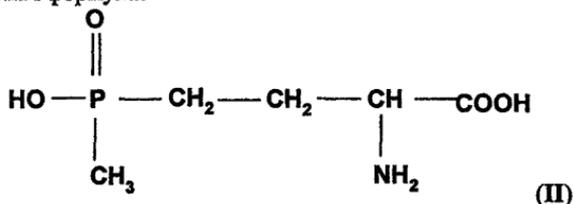
Глюфосинат аммония применяется для десикации ботвы картофеля, подсолнечника, клещевины, люцерны и сеникации яровой пшеницы. Используется в России в качестве десиканта на посевах подсолнечника, рапса, клещевины, льна-долгунца, люцерны и клевера лугового (семенные посевы) при норме расхода от 0,225 до 0,45 кг/га (по д.в.).

Глюфосинат аммония в воде и растениях превращается в глюфосинат свободную кислоту (II), которая подвергается разрушению, результатом чего является образование токсикологически значимого метаболита – 3-метилфосфино-пропионовой кислоты (III).

Глюфосинат свободная кислота (II)

DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфиновая кислота.

Структурная формула:

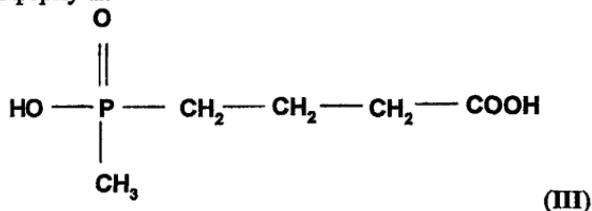
Эмпирическая формула: C₅H₁₂NO₄P.

Молекулярная масса: 181,1.

Метаболит глюфосината аммония (III)

3-метилфосфино-пропионовая кислота.

Структурная формула:

Эмпирическая формула: C₄H₉O₄P.

Молекулярная масса: 152,1.

В России установлены следующие гигиенические нормативы для глюфосината аммония: ДСД – 0,02 мг/кг массы человека; МДУ в продукции (мг/кг): плодовые семечковые и косточковые, ягоды и другие мелкие фрукты (кроме смородины), цитрусовые, виноград, морковь – 0,2; картофель – 0,5; подсолнечник (семена), рапс (зерно) – 5,0; гречиха, просо, зерно хлебных злаков – 0,4; растительные масла (кроме нерафинированных рапсового и подсолнечного масла) – 0,4; горох – 3,0; соя (бобы), фасоль – 2,0.

1. Метрологические характеристики

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 табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для глюфосината аммония и его метаболита

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности) $\pm \delta, \% P = 0,95$	Стандартное отклонение по повторяемости, $\sigma_r, \%$	Предел повторяемости, $r, \%$	Предел воспроизводимости, $R, \%$
Картофель	Дериват глюфосината аммония (IV)				
	0,25—2,5	25	3,75	10,43	14,60
	Дериват метаболита глюфосината аммония (V)				
	0,25—2,5	25	3,11	8,65	12,10

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для глюфосината аммония и его метаболита

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, $\pm, \%$
Картофель	Дериват глюфосината аммония (IV)				
	0,25	0,25—2,5	83,37	4,47	1,81
	Дериват метаболита глюфосината аммония (V)				
	0,25	0,25—2,5	82,48	5,15	2,12

2. Метод измерения

Метод основан на определении глюфосината аммония и его метаболита 3-метилфосфино-пропионовой кислоты по их дериватам (IV и V соответственно) методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после экстракции веществ из образцов водой, очистки экстрактов на концентрирующих патронах

№ 2, дериватизации веществ с помощью триметилортоацетата в кислой среде и последующей очистки полученных дериватов на концентрирующих патронах № 1.

Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность метода достигается за счет подбора условий дериватизации анализируемых веществ, подбора капиллярной колонки и условий программирования ее температуры.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г

Весы лабораторные общего назначения класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности $\pm 0,038$ г
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 см³ ГОСТ 1770—74

Микрошприц объемом 10 мм³ со шкалой деления 0,1 мм³ и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 %

Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см³

ГОСТ 29227—91

Пробирки мерные на 10 и 25 см³

ГОСТ 1770—74

Хроматографическая система, включающая:
– хроматограф газовый с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по фосфору в Паратион-метиле 3×10^{-14} г/см³ и снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения

хроматографического анализа, обеспечивающее
обработку результатов измерений, вывод и
расчет хроматограмм и количественный анализ
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 см³

ГОСТ 1770—74

Примечание. Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Глюкофосинат аммония (I), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,2 %	CAS 77182-82-2
Глюкофосинат свободная кислота (II), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,5 %	CAS 51276-47-2
3-метилфосфино-пропионовая кислота (III), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 97,9 %	CAS 15090-23-0
Метил-4-(метоксиметил)-фосфино-2-ацетамидобутират (IV), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 97,0 %	CAS 134932-24-4
Метил-3-(метоксиметил)фосфино-пропионат (V), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,8 %	CAS 134932-24-4
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Аммиак водный (28—30 % NH ₃), чда	ГОСТ 3760—79
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный	ТУ-51-940—80
Калий марганцово-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота муравьиная, чда	ГОСТ 5848—73
Кислота уксусная, ледяная	ГОСТ 61—75
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с гидрофильным слабокислым	

сорбентом с постоянной активностью с размером частиц 63—200 мкм (С) (объем — 1 см ³ , масса сорбента — 0,6 г) (патрон № 1)	ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с сильноосновным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм с привитыми четвертичными аммониевыми группами (объем — 1 см ³ , масса сорбента — 0,6 г) (патрон № 2)	ТУ 4215-002-05451931—94
Метилацетат, ч	ТУ 6-09-300—87
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрия гидроокись, хч	ГОСТ 4328—77
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Спирт метиловый (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Толуол, химически чистый	ГОСТ 5789—78
Триметилортоацетат	CAS 1445-45-0
Этилацетат, чда	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 см ³	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Виалы (пузырьки) с тефлоновыми прокладками емкостью 40 см ³	
Воронки делительные на 250 и 500 см ³	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до	

3 000 см³, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 дм³ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С

Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 см³

ГОСТ 25336—82

Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 и 4 000 см³ ТС

ТУ 92-891.029—91

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренним диаметром 0,32 мм, длиной 15 м, с неподвижной фазой, содержащей 50 % фенила и 50 % метилполисилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм

Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс, с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 дм³/мин

Сито лабораторное с полотном из латуни или нержавеющей стали с размером ячеек 1 мм

ГОСТ 3826—82 и

ГОСТ 6613—86

Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—2 000 см³

ГОСТ 25336—82

Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см³ и приемной конической колбой объемом 1 000 см³

Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие, диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г

ТУ-6-09-1678—86

Центрифуга лабораторная, настольная с максимальным рабочим числом оборотов 4 000 об./мин, с рабочим объемом ротора 200 см³ × 4 ячейки, выбираемый временной диапазон работы от 0 до 100 мин и с набором полипропиленовых банок емкостью 200 см³

Примечание. Допускается применение 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—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. 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—91.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов № 1 и 2 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения веществ на концентрирующих патронах № 1 и 2, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Ацетон, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм³. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцово-кислый калий из расчета 100 мг/дм³. Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка метанола

Метанол, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный углекислый калий из расчета не менее 100 г/дм³. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем метанол фильтруют через фильтр «красная лента» в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ аппарата для перегонки растворителей.

Метанол перегоняют при температуре 64,7 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 64,7 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм³ и кипятят в течение 6 ч.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. Приготовление 0,015 М раствора водного аммиака.

В мерную колбу вместимостью 1 000 см³ добавляют 500 см³ деионизированной воды и 10 см³ водного аммиака (содержит 28—30 % NH₃), перемешивают и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.1.2. Приготовление 0,01 М раствора гидроксида натрия.

В мерную колбу на 500 см³ переносят 0,2 г гидроксида натрия, добавляют 200—300 см³ дистиллированной воды. Затем раствор переме-

шивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.1.3. Приготовление 40 %-го водного раствора муравьиной кислоты

В мерную колбу объемом 1 000 см³ помещают 500 см³ очищенной воды, прибавляют 400 см³ муравьиной кислоты, перемешивают и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией деривата глюфосината аммония (IV) 100 мкг/см³ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 13,9 мг метил-4-(метоксиметил)-фосфинил-2-ацетамидобутирата (IV, дериват глюфосината аммония), растворяют в 40—50 см³ метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают. Стандартный раствор № 1 хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией деривата метаболита глюфосината аммония (V) 100 мкг/см³ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 мг метил-3-(метоксиметил)-фосфинил-пропионата (V, дериват метаболита), растворяют в 40—50 см³ метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают. Стандартный раствор № 2 хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 10,0 мкг/см³ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 10 см³, помещают в мерную колбу объемом 100 см³. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 10 см³ и помещают в ту же колбу объемом 100 см³, доводят объем до метки метилацетатом. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранят в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 2,0 мкг/см³ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 1,0 мкг/см³ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 0,4 мкг/см³ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).

Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 2 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

7.2.2.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией дериватов глюфосината аммония и его метаболита по 0,2 мкг/см³ (в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота II).

Из стандартного раствора № 5 отбирают пипеткой 2 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ и доводят объем до метки метилацетатом при перемешивании. Стандартный раствор № 7 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике в течение 1 месяца.

7.2.3. Приготовление растворов для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы

7.2.3.1. Стандартный раствор А с концентрацией глюфосината аммония 1 мг/см³.

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 50,45 мг глюфосината аммония, добавляют 30—35 см³ 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объ-

ем до метки этим же растворителем. Раствор А хранится в холодильнике не более одного месяца.

7.2.3.2. Стандартный раствор В с концентрацией 3-метилфосфино-пропионовой кислоты 1 мг/см³.

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 42 мг 3-метилфосфино-пропионовой кислоты, добавляют 30—35 см³ 0,015 М раствора водного аммиака, перемешивают до полного растворения вещества и доводят объем до метки этим же растворителем. Раствор В хранится в холодильнике не более одного месяца.

7.2.3.3. Стандартный раствор С с концентрацией глюфосината аммония и его метаболита по 10,0 мкг/см³.

Из стандартного раствора А отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 100 см³. Из стандартного раствора В отбирают пипеткой 1 см³ и помещают в ту же колбу объемом 100 см³, доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор С используется для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы и хранится в холодильнике не более одного месяца.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации дериватов глюфосината аммония и его метаболита в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,2; 0,4; 1,0; 2,0 мкг/см³.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Дериватизация

Из стандартного раствора В (п. 7.2.3.3), содержащего по 10 мкг/см³ глюфосината аммония и его метаболита, отбирают 0,5 см³, помещают в концентратор объемом 100 см³ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

К сухому остатку в концентраторе приливают 3 см³ ледяной уксусной кислоты, перемешивают содержимое и помещают концентратор на 1 мин в ультразвуковую ванну. Затем в колбу добавляют 12 см³ триметилортоацетата и снова помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 4,5 ч.

К охлажденной реакционной смеси добавляют три порции по 15 см³ каждая толуола и каждый раз выпаривают содержимое на ротационном вакуумном испарителе (для полного удаления реакционной смеси) при температуре не выше 40 °С до объема 1—2 см³. Содержимое концентратора переносят в мерную пробирку и доводят объем до 4 см³ толуолом. Пробу возвращают в концентратор объемом 100 см³, добавляют 4 см³ метилацетата, перемешивают содержимое и помещают концентратор в ультразвуковую ванну на 1 мин. Затем 1 мм³ пробы вводят в хроматограф.

Примечание: При проведении дериватизации посуда и реактивы должны быть сухими.

7.5. Подготовка концентрирующих патронов № 2 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения глюфосината аммония и его метаболита на них

7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов № 2 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см³/мин (1—2 кап./с).

Патрон № 2 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см³ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 см³ 0,01 М раствора гидроксида натрия, 10 см³ воды. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения глюфосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 2

Из стандартного раствора С (п. 7.2.3.3), содержащего 10 мкг/см³, отбирают 0,5 см³, помещают в концентратор объемом 100 см³ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 20 см³ воды, тщательно обмывая стенки концентратора, выдерживают 1—2 мин в ультразвуковой ванне и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см³, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С. Патрон промывают четырьмя-пятью порциями по

10 см³ каждая 40 %-го водного раствора муравьиной кислоты. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 см³, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С.

Патрон промывают 20 см³ воды, элюат отбрасывают. Затем патрон промывают четырьмя-пятью порциями по 10 см³ каждая 0,015 М раствора водного аммиака. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 см³, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С.

Пробы подвергают дериватизации (п. 7.4) и анализируют на содержание дериватов глюфосината аммония и метаболита по п. 9.2.

Определяют фракции, содержащие дериваты глюфосината аммония и его метаболита, полноту смывания с патрона и необходимый объем элюента.

Изучение поведения дериватов глюфосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 2 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

7.6. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения дериватов глюфосината аммония и его метаболита на них

7.6.1. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см³/мин (1—2 кап./с).

Патрон № 1 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см³ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 см³ смеси метилацетата с толуолом в соотношении 1 : 1, элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.6.2. Проверка хроматографического поведения дериватов глюфосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 1

Из стандартного раствора № 3 (п. 7.2.2.3), содержащего 10 мкг/см³, отбирают 0,5 см³, помещают в концентратор объемом 100 см³ и упари-

вают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 4 см³ толуола, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 4 см³ метилацетата, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см³. Промывают патрон последовательно 5 см³ метилацетата, затем четырьмя-пятью порциями по 5 см³ каждой смеси метилацетата с метанолом в соотношении 1 : 1. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 см³, упаривают до объема 0,5—1 см³ на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Содержимое концентраторов переносят в мерную пробирку. Концентратор обмывают двумя порциями по 1,5 см³ метилацетата, смывы объединяют в пробирке. Доводят объем в пробирке до 5 см³ и 1 мм³ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие дериваты глюкофосината аммония и его метаболита, полноту смывания с патрона и необходимый объем элюента.

Изучение поведения дериватов глюкофосината аммония и его метаболита на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТ 27853—88 «Овощи соленые и квашеные, плоды и ягоды моченые. Приемка, отбор проб», ГОСТ 13341—77 «Свежие и свежемороженые овощи, картофель, бахчевые, фрукты, ягоды, грибы. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. Технические условия».

Пробы клубней картофеля хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре -18 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Клубни картофеля

9.1.1. Экстракция

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 см^3 , приливают 50 см^3 дистиллированной воды и помещают на 15 мин на аппарат для встряхивания проб. По окончании экстракции пробу центрифугируют в течение 10 мин на скорости 3 000 оборотов в минуту. Экстракт фильтруют через фильтр низкой плотности в коническую колбу объемом 250 см^3 . Экстракцию повторяют еще один раз, используя 50 см^3 дистиллированной воды и помещая на 15 мин на аппарат для встряхивания проб, центрифугируют и фильтруют в ту же коническую колбу.

9.1.2. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 2

Из экстракта, полученного по п. 9.1.1, отбирают аликвоту объемом 20 см^3 , наносят на подготовленный концентрирующий патрон № 2.

Метаболит глюфосината аммония элюируют с патрона 40 см^3 40 %-го водного раствора муравьиной кислоты. Элюат собирают в концентратор объемом 250 см^3 .

Патрон промывают 20 см^3 воды, элюат отбрасывают. Элюируют глюфосинат аммония 40 см^3 0,015 М раствора водного аммиака, элюат объединяют с предыдущим в тот же концентратор объемом 100 см^3 . Объединенные элюаты выпаривают досуха при температуре 55—60 °С. Для удаления остатков воды в концентратор добавляют 5—10 мл этилацетата.

9.1.3. Дериватизация

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.2, приливают 3 см^3 ледяной уксусной кислоты, перемешивают содержимое и проводят дериватизацию как указано в п. 7.4.

9.1.4. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1

Раствор, полученный в п. 9.1.3, наносят на заранее подготовленный концентрирующий патрон № 1, элюат отбрасывают. Патрон промывают 5 см^3 метилацетата, элюат отбрасывают.

Дериваты глгофосината аммония и его метаболита элюируют с патрона 15 см³ смеси метилацетата с метанолом в соотношении 1 : 1. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см³ и упаривают до объема 0,5—1,0 см³ на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Содержимое концентратора переносят в мерную пробирку. Концентратор обмывают двумя порциями по 1,5 см³ метилацетата, смывы объединяют в пробирке. Доводят объем в пробирке до 5 см³ и 1 мм³ пробы вводят в хроматограф.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

- хроматограф газовый с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по фосфору в Паратион-метиле 3×10^{-14} г/см³ и снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

- компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренним диаметром 0,32 мм, длиной 15 м, с неподвижной фазой, содержащей 50 % фенила и 50 % метилполисилоксана и толщиной пленки 0,25 мкм.

Температура термостата колонки программируемая: начальная температура – 130 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки по 25 °С в минуту до 270 °С, выдержка 5 мин. Температура испарителя – 230 °С, детектора – 300 °С.

Газ 1 – гелий (газ-носитель), регулятор расхода гелия – РРГ-10; давление на входе – 80 кПа, линейная скорость – 34,352 см/с, давление на выходе – 101,3 кПа; поток через колонку – 1,756 см³/мин; мертвое время – 1,46 мин.

Газ 2 – гелий (сброс пробы), регулятор расхода гелия – РРГ-11, режим – сплитлесс, расход во время анализа – 10 см³/мин, деление потока – 1 : 30, начало сброса 1 мин, длительность сброса – 2 мин.

Газ 4 – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 25 см³/мин.

Газ 5 – водород, расход во время анализа – 11,5 см³/мин.

Газ 6 – воздух, расход – 200 см³/мин.

Продувка детектора и испарителя азотом после анализа – по 35 см³/мин в течение 3 мин при температуре колонки 270 °С.

Время удерживания: первым с колонки выходит дериват метаболита (V), а затем дериват глюфосината аммония (IV).

Объем вводимой пробы: 1 мм³.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,2—2,0 нг.

10. Обработка результатов анализа

Содержание глюфосината аммония или его метаболита в пересчете на эквивалент глюфосинат свободная кислота в пробах клубней картофеля по пикам дериватов рассчитывают отдельно по формуле:

$$X = \frac{S_{np} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

X – содержание глюфосината аммония или его метаболита в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандартов дериватов глюфосината аммония или его метаболита, мВ;

S_{np} – высота (площадь) пика образца, мВ;

A – концентрация стандартных растворов дериватов глюфосината аммония или его метаболита, мкг/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m – масса анализируемого образца, г (см³);

P – содержание дериватов глюфосината аммония или его метаболита в аналитическом стандарте, %.

Общее содержание глюфосината аммония определяют путем простого суммирования полученных результатов.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг или мг/дм³;
 r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2,8 \times \sigma_r$.

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

12. Оформление результатов.

Результат анализа представляют в виде:

$$(\bar{X} \pm \Delta) \text{ мг/кг при вероятности } P = 0,95, \text{ где}$$

\bar{X} – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100}, \text{ где}$$

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

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

*«содержание вещества в пробе менее 0,25 мг/кг».**

* – 0,25 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений.

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

Контроль стабильности градуировочной характеристики для дериватов глүфосината аммония и его метаболита проводят при смене основных градуировочных растворов № 1 и 2 каждые 6 месяцев, при смене основных градуировочных растворов № 3 – каждые 3 месяца, при смене

основных градуировочных растворов № 4, 5, 6 и 7 – каждый месяц, а также в начале и окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание дериватов глюфосината аммония и его метаболита в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,2 до 2,0 мкг/см³.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \leq 10,38 \text{ для глюфосината аммония и } 2,90 - \text{ для его}$$

метаболита;

X – концентрация глюфосината аммония и его метаболита (по дериватам) контрольного измерения, мкг/см³;

C – известная концентрация градуировочных растворов дериватов глюфосината аммония и его метаболита в метилацетате, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см³;

10,38 или 2,90 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 10,38 % (или 2,90 %), делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов дериватов глюфосината аммония и его метаболита, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки C_0 должна удовлетворять условию:

$$C_0 \geq \Delta_{\lambda, \bar{x}} + \Delta_{\lambda, \bar{x}'}, \text{ где}$$

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100}, \text{ где}$$

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

Результат контроля процедуры K_x рассчитывают по формуле:

$$K_x = \bar{X}' - \bar{X} - C_\delta, \text{ где}$$

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

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

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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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

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

**Полнота извлечения деривата глюфосината аммония (IV)
из клубней картофеля
(5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)**

Среда	Внесено, мг/кг	Обнаружено, мг/кг	Полнота определения, %
Клубни картофеля	0,25	0,219 ± 0,009	87,4
	0,50	0,422 ± 0,020	84,5
	1,25	1,029 ± 0,026	82,3
	2,50	1,987 ± 0,070	79,3

**Полнота извлечения деривата метаболита глюфосината
аммония (V) из клубней картофеля
(5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)**

Среда	Внесено, мг/кг	Обнаружено, мг/кг	Полнота определения, %
Клубни картофеля	0,25	$0,219 \pm 0,004$	87,5
	0,50	$0,425 \pm 0,010$	85,0
	1,25	$1,007 \pm 0,024$	80,6
	2,50	$1,920 \pm 0,074$	76,8

**Определение остаточных количеств глюфосината аммония
и его метаболита в клубнях картофеля методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.3205—14**

Редактор Н. В. Кожока
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 16.06.15

Формат 60x84/16

Тираж 150 экз.

Усл. печ. л. 1,63
Заказ 43

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 8(495)952-50-89