

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

(Handwritten signature)
«10» июля 2006 г.
Дата введения: 2006 г.

Г.Г. Онищенко

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ.

Методические указания

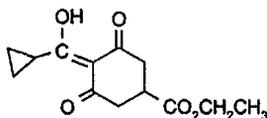
по определению остаточных количеств тринексапак-этила и его основного метаболита тринексапака-кислоты в воде, тринексапак-этила по метаболиту тринексапаку-кислоте в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

МУК 4.1. ²⁰⁰⁶ -06

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тринексапак-этила и его основного метаболита тринексапака-кислоты в воде в диапазоне 0,002 - 0,02 мг/дм³; тринексапак-этила по метаболиту тринексапаку-кислоте в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур в диапазонах 0,1 – 1 мг/кг; 0,05 – 0,5 мг/кг и 0,1 – 1 мг/кг, соответственно.

Тринексапак-этил (CGA 163935) - действующее вещество препарата МОДУС, КЭ (250 г/л) фирма производитель «Сингента».

4-циклопропил(гидрокси)метилен-3,5-диоксоциклогексанкарбоновая кислота, этиловый эфир (IUPAC)



C₁₃H₁₆O₅

Мол. масса 252,3

Белое твердое вещество без запаха (технический продукт с содержанием д.в. ≥ 92% - жидкость (30⁰С) от желтого до красно-коричневого цвета или полу расплавленная масса (20⁰С), со слабым сладким запахом. Температура плавления: 36⁰С, кипения > 270⁰С. Давление паров: 1,6 мПа (20⁰С); 2,16 мПа (25⁰С). Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} logP = 1,6 (рН 5,3, 25⁰С). Плотность 1,215 г/см³

(20°C). Растворимость в этаноле, ацетоне, толуоле, н-октаноле – 100%; н-гексане – 5% (25°C). Растворимость в воде (г/дм³, 25°C): 2.8 (рН 4.9); 10.2 (рН 5.5); 21.1 (рН 8.2).

Вещество стабильно к нагреванию до температуры кипения. Фотолитически и гидролитически устойчиво при нормальных условиях окружающей среды (рН 6-7, 25°C), менее стабильно в щелочах. рКа 4.57.

Основным продуктом деградации тринексапак-этила является тринексапак-кислота.

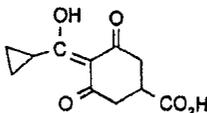
Краткая токсикологическая характеристика тринексапак-этила

Острая пероральная токсичность (LD₅₀) для крыс – более 4460 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD₅₀) для крыс – более 4000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC₅₀) для крыс – более 5300 мг/м³ воздуха (48 часов).

Тринексапак-этил не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кроликов.

Основной метаболит тринексапак-этила: тринексапак-кислота (CGA 179500)

4-циклопропил(гидроксиметил)-3,5-диоксоциклогексанкарбоновая кислота (IUPAC)



C₁₁H₁₂O₅

Мол. масса 224.2

Бесцветный порошок без запаха. Температура плавления: 144.4°C, кипения 220°C. Давление паров при 25°C: 1,41*10⁻³ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 1,8 (рН 2). Плотность 1,41 (20°C). Растворимость в воде (г/дм³): 13 (рН 5); 200 (рН 6.8); 260 (рН 8.4).

Растворимость в органических растворителях (г/дм³): ацетон – 95, этилацетат – 37, метанол – 84, октанол – 17. рКа₁ 5.32; рКа₂ 3.93.

Область применения препарата

Препарат МОДУС, КЭ (250 г/л), д.в. тринексапак-этил – регулятор роста растений, рекомендуемый для применения на зерновых - пшеница, ячмень (яровые и

озимые), рожь (озимая), овес, а также рапсе с нормой расхода 0.25 – 0.5 л/га (1 – 3 опрыскивания с интервалом 7 дней) для зерновых и 1.0 – 1.5 л/га для рапса.

Рекомендуемые гигиенические нормативы: ПДК в воде водоемов – 0.01 мг/дм³, ОДК в почве – 0.2 мг/кг, ВМДУ в зерне зерновых колосовых – 0.1 мг/кг.

1. Метрологические характеристики

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Определяемое вещество	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (дм ³)	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, % $P=0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ , %	Предел повторяемости, r , %	Предел воспроизводимости, R , %
Вода					
Тринексапак-этил	от 0,002 до 0,01 вкл.	100	6,5	18	21
	более 0,01 до 0,02 вкл.	50	4,6	13	16
Тринексапак-кислота	от 0,002 до 0,01 вкл.	100	4,7	13	15
	более 0,01 до 0,02 вкл.	50	5,8	16	19
Почва					
Тринексапак-кислота	от 0,1 до 1	50	5,6	16	19
Зерно					
Тринексапак-кислота	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	5,2	15	18
	более 0,1 до 0,5 вкл.	25	4,9	14	16
Солома					
Тринексапак-кислота	от 0,1 до 1	25	5,7	16	19

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

Таблица 2

Определяемое вещество	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, %
Вода					
Тринексапак-этил	0,002	0,002 – 0,02	80,0	6,1	$\pm 3,2$
Тринексапак-кислота	0,002	0,002 – 0,04	81,0	4,6	$\pm 2,4$
Почва					
Тринексапак-кислота	0,1	0,1 – 1,0	80,1	4,1	$\pm 2,2$
Зерно					
Тринексапак-кислота	0,05	0,05 – 0,5	80,8	5,3	$\pm 2,8$
Солома					
Тринексапак-кислота	0,1	0,1 – 1,0	80,5	4,6	$\pm 2,4$

1. Метод измерений

Методика основана на определении веществ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Определение действующего вещества – тринексапак-этила и его метаболита тринексапака-кислоты в образцах воды включает экстракцию дихлорметаном, последующую очистку на патронах C18 Sep Pak (определение тринексапак-этила) или Oasis[®] MAX (определение тринексапака-кислоты). Контроль тринексапак-этила в образцах почвы, зерна, соломы осуществляется по содержанию его основного метаболита тринексапака-кислоты после экстракции из анализируемого образца смесью метанол-фосфатный буфер (pH 7), последовательной очистки экстракта на концентрирующих патронах C18 Sep Pak, затем Oasis[®] MAX.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США) Номер Госреестра 15945-97.

Весы аналитические ВЛА-200 ГОСТ 24104

Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г ГОСТ 7328

Копбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-500-2, 2-1000-2 ГОСТ 1770

pH-метр модель pH-211 (фирмы HANNA Instruments, Германия) Номер Госреестра 14300-94

Меры массы ГОСТ 7328

Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 см³ ГОСТ 29227

Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 и 10 см³ ГОСТ 1770

Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 см³ ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Тринексапак-этил, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,6% (Сингента, Швейцария)

Тринексапак-кислота (CGA 179500), аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99% (Сингента, Швейцария)

Ацетонитрил для хроматографии, хч ТУ 6-09-4326-76

Вода деионизованная ГОСТ 6702

Калий фосфорнокислый однозамещенный, хч ГОСТ 4198

Кислота орто-фосфорная, хч, 85% ГОСТ 6552

Кислота серная, хч ГОСТ 4204

Кислота соляная (хлороводородная), хч	ГОСТ 3118
Кислота уксусная, лед., хч	ГОСТ 61
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий гидроксид (натр едкий), хч	ГОСТ 4328
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий фосфорнокислый двузамещенный, 12-ти водный, хч	ГОСТ 4172
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Тетрабутиламмоний гидросульфат (Merck, Германия)	

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 ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678-77
Воронка Бюхнера	ГОСТ 25336
Воронки делительные вместимостью 150, 250 и 1500 см ³	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9773
Колба Бунзена	ГОСТ 25336
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 250 см ³	ГОСТ 9737
Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 400–500 см ³	ГОСТ 9737
Колбы грушевидные на шлифе вместимостью 100-150 см ³	ГОСТ 9737
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Стаканы химические, вместимостью 100, 500 см ³	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	

Патроны для твердофазной экстракции C18 Sep Pak,
Classik (Waters, США)

Патроны для твердофазной экстракции Oasis® MAX
6cc/500 mg (Waters, США)

Ротационный вакуумный испаритель В-169. фирмы Buchi,
Швейцария

Установка для перегонки растворителей

Холодильник водяной обратный ГОСТ 9737

Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см,
внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Кромасил 100
C18, зернением 7 мкм

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа
емкостью 50 – 100 мм³

Шприцы медицинские с разъемом Льюера емкостью 5 ГОСТ 22090
и 10 см³

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
электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также
требования, изложенные в технической документации на жидкостной 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 жидкостном 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 жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка ацетонитрила (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, растворов внесения, буферных растворов, смесей для экстракции, для приготовления градуировочных растворов и растворения образцов, подвижных фаз для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка концентрирующих патронов C18 Sep Pak и Oasis[®] MAX.

7.1. 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 1 М и 0,1 М растворов орто-фосфорной кислоты

Для приготовления 1 М раствора орто-фосфорной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 68 см³ 85%-ной орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

Для приготовления 0,1 М раствора орто-фосфорной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 100 см³ 1 М раствора орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Приготовление 0,1%-ного раствора орто-фосфорной кислоты

В мерную колбу вместимостью 500 см³ помещают 200-300 см³ дистиллированной воды, вносят 0,5 см³ орто-фосфорной кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, вновь перемешивают.

7.4. Приготовление 1 М и 0,1 М растворов гидроксида натрия

Для приготовления 1 М раствора гидроксида натрия в мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 40 г гидроксида натрия, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

Для приготовления 0,1 М раствора гидроксида натрия в мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 100 см³ 1 М раствора гидроксида натрия, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.5. Приготовление 1 N и 0,1 N растворов серной кислоты

Для приготовления 1 N раствора серной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 300-400 см³ деионизованной воды, вносят 28 см³ концентрированной серной кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, вновь перемешивают.

Для приготовления 0,1 N раствора серной кислоты в мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 100 см³ 1 N раствора серной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.6. Приготовление 0,12 N раствора соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 30-40 см³ деионизованной воды, вносят 10 см³ концентрированной соляной кислоты, перемешивают, доводят водой до метки, вновь перемешивают.

7.7. Приготовление фосфатного буферного раствора (рН 7)

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 14,684 г Na₂HPO₄·12H₂O (0,041 моль) и 3,81 г KH₂PO₄ (0,028 моль), доводят объем раствора до метки деионизованной водой, перемешивают. Контролируют рН раствора с помощью рН-метра, при необходимости доводят его значение до 7 добавлением 0,1 М растворов гидроксида натрия или орто-фосфорной кислоты.

7.8. Приготовление смеси растворителей для градуировочных растворов и растворения образцов при определении тринексапака-кислоты

В коническую колбу вместимостью 100 см³ помещают 90 см³ деионизованной воды, 5 см³ фосфатного буферного раствора (рН 7), 5 см³ ацетонитрила и 0,4 г тетрабутиламмоний гидросульфата, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.9. Приготовление водного фосфатного буферного раствора (рН 2)

В коническую колбу вместимостью 1000 см³ помещают 30 см³ 1 М раствора орто-фосфорной кислоты, 20 см³ 1 N раствора серной кислоты, 20 см³ 1 М раствора гидроксида натрия, 660 см³ деионизованной воды и 4 г тетрабутиламмоний гидросульфата, перемешивают. Контролируют рН раствора с помощью рН-метра, при

необходимости доводят его значение до 2 добавлением 1 М растворов гидроксида натрия или орто-фосфорной кислоты.

7.10. Приготовление смеси растворителей для экстракции тринексапака-кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 30 см³ метанола, 56 см³ деионизованной воды и 14 см³ фосфатного буферного раствора (рН 7), перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.11. Приготовление смеси растворителей для элюции тринексапак-этила с концентрирующего патрона C18 Sep Pak

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 500 см³ ацетонитрила, 500 см³ 0,1% раствора орто-фосфорной кислоты, добавляют 3 см³ ледяной уксусной кислоты перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.12. Подготовка концентрирующих патронов C18 Sep Pak и Oasis® MAX

Концентрирующий патрон промывают с помощью медицинского шприца 10 см³ метанола со скоростью прохождения растворителя через патрон 1-2 капли в сек., затем 10 см³ деионизованной воды. Патроны готовят непосредственно перед использованием.

7.13. Подготовка подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ

(определение тринексапак-этила)

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 500 см³ ацетонитрила, 500 см³ деионизованной воды, 1 см³ орто-фосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.14. Подготовка подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ

(определение тринексапака-кислоты)

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 720 см³ водного фосфатного буферного раствора (рН 2) и 280 см³ ацетонитрила, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.15. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.13 или 7.14) при скорости подачи растворителя 1 см³/мин не менее 2-х часов до установления стабильной базовой линии.

7.16. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.16.1. Исходные растворы тринексапак-этила и тринексапака-кислоты для градуировки (концентрация 200 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³

помещают 0,02 г тринексапак-этила (или тринексапака-кислоты), растворяют в 40 - 50 см³ ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4-6⁰С в течение 3-х месяцев.

7.16.2. Растворы тринексапак-этила и тринексапака-кислоты № 1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 5 см³ исходного раствора тринексапак-этила (или тринексапака-кислоты) с концентрацией 200 мкг/см³ (п. 7.16.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки.

Градуировочные растворы № 1 хранят в холодильнике при температуре 4-6⁰С в течение месяца.

Раствор тринексапак-этила с концентрацией 10 мкг/см³ используют для приготовления проб воды с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найденно», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.16.3. Рабочие растворы № 2 -5 тринексапак-этила для градуировки (концентрация 0.1 - 1.0 мкг/см³)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см³ градуировочного раствора № 1 тринексапак-этила с концентрацией 10 мкг/см³ (п. 7.16.2.), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.13, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией тринексапак-этила 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/см³, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед употреблением.

7.16.4. Рабочие растворы № 2 -6 тринексапака-кислоты для градуировки (концентрация 0.1 - 1.0 мкг/см³)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см³ градуировочного раствора № 1 тринексапака-кислоты с концентрацией 10 мкг/см³ (п. 7.16.2.), доводят до метки смесью растворителей, приготовленной по п. 7.8, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией тринексапака-кислоты 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/см³, соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4-6⁰С в течение 5-ти дней.

7.16.4. Растворы внесения тринексапака-кислоты (концентрация 1 и 10 мкг/см³) В 2 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 0.5 и 5 см³ исходного раствора тринексапака-кислоты с концентрацией 200 мкг/см³ (п. 7.16.1.),

доводят до метки деионизованной водой, тщательно перемешивают, получают растворы с концентрацией тринексапака-кислоты 1.0 и 10 мкг/см³, соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4-6⁰С в течение 5-ти дней.

Эти растворы используют для приготовления проб воды, почвы, зерна и соломы с внесением тринексапака-кислоты при оценке полноты извлечения вещества методом «внесено-найденно», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.17. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (отн. единицы) от концентрации тринексапак-этила (или тринексапака-кислоты) в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.1 или 9.3.2. 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», 13586.3-83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», Р 50436-92 «Зерновые. Отбор проб зерна», 27262-87 «Корма растительного происхождения. Методы отбора проб», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051-79 от 21.08.79).

Пробы воды анализируют в день отбора или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре -18⁰С.

Образцы почвы подсушивают в темноте (при температуре до 160⁰С) до постоянного веса, помещают в герметичную тару и хранят в защищенном от света месте при комнатной температуре не более 6-ти месяцев.

Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре -18⁰С.

Зерно и солому, подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в тканевых мешочках в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре

не более 6-ти месяцев. Измельченные пробы зерна (аналитические образцы массой 20 г) замораживают и хранят при температуре -18°C .

Перед анализом воду фильтруют через неплотный бумажный фильтр, почву – просеивают через сито с диаметром отверстий 5 мм, зерно и солому измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

9.1.1. Определение тринексанак-этила

9.1.1.1. Экстракция

Образец анализируемой воды объемом 750 см^3 помещают в делительную воронку вместимостью 1500 см^3 , вносят 30 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают, доводят рН раствора до $3\pm 0,1$ с помощью $0,12\text{ N}$ соляной кислоты или $0,1\text{ N}$ гидроксида натрия (контролируя его значение по рН-метру). Затем в воронку добавляют 50 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 250 см^3 , фильтруя его через 2-х см слой безводного сульфата натрия, помещенный в конусную химическую воронку диаметром 60 мм, снабженную бумажным фильтром «красная лента». Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды порциями хлористого метилена по 50 см^3 . Отстоявшийся слой хлористого метилена (нижняя фаза) фильтруют в колбу с ранее полученным экстрактом.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40°C , подвергают очистке в соответствии с п. 9.1.1.2.

9.1.1.2. Очистка экстракта

Остаток в колбе, полученный по п. 9.1.1.1., растворяют в 1 см^3 ацетонитрила, помещая на 30 сек на ультразвуковую баню, добавляют 4 см^3 деионизованной воды, вновь помещают на 30 сек на ультразвуковую баню. Затем полученный раствор вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон C18 Sep Pak, подготовленный по п. 7.12. со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. После нанесения пробы патрон промывают 5 см^3 смеси ацетонитрил-вода (1:3, по объему), элюат отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 15 см^3 смеси ацетонитрил-0,1% ортофосфорная кислота (8:2, по объему) + 0,3% уксусной кислоты (приготовленной по п. 7.11), собирая элюат в коническую колбу с пришлифованной пробкой,

перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр и анализируют содержание тринексапак-этила по п. 9.3.1.

9.1.2. Определение тринексапака-кислоты

9.1.2.1. Экстракция

Образец анализируемой воды объемом 125 см^3 * помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3 , вносят 10 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия и 5 см^3 1 N серной кислоты, перемешивают. Затем в воронку добавляют 20 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 250 см^3 . Операцию экстракции водной фазы повторяют еще трижды порциями хлористого метилена по 20 см^3 . Отстоявшийся слой хлористого метилена (нижняя фаза) переносят в колбу с ранее полученным экстрактом.

К объединенному экстракту добавляют 5 см^3 фосфатного буферного раствора (рН 7), упаривают хлористый метилен на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40°C , оставшийся водный раствор подвергают очистке в соответствии с п. 9.1.2.2.

9.1.2.2. Очистка экстракта

Раствор в колбе, полученный по п. 9.1.2.1. вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон Oasis MAX, подготовленный по п. 7.12. со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. После нанесения пробы патрон промывают 5 см^3 смеси метанол-вода (3:7, по объему), затем 5 см^3 деионизированной воды элюаты отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 10 см^3 $0,1 \text{ N}$ серной кислоты, собирая элюат в делительную воронку вместимостью 150 см^3 . Вносят в воронку 5 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия и 10 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 . Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды порциями хлористого метилена по 10 см^3 . Отстоявшийся слой хлористого метилена (нижняя фаза) переносят в колбу с ранее полученным экстрактом.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40°C , остаток растворяют в $2,5 \text{ см}^3$ смеси растворителей,

* Выбор данного объема анализируемого образца воды обеспечивает аналогичный предел обнаружения основного вещества и метаболита.

подготовленной по п. 7.11 (помещая на ультразвуковую баню на 30-40 сек), фильтруют через мембранный фильтр и анализируют содержание тринексапака-кислоты по п. 9.3.2.

9.2. Почва, зерно, солома

9.2.1. Экстракция

Образец измельченного зерна массой 20 г, соломы массой 10 г, помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см³, добавляют 60 см³ смеси для экстракции, приготовленной по п. 7.10, и помещают на встряхиватель на 2 часа.

Образец сухо-воздушной почвы массой 10 г помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 см³, добавляют 60 см³ смеси для экстракции, приготовленной по п. 7.10, и кипятят с обратным холодильником в течение 2-х часов.

Пробам дают отстояться 1 час, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр «красная лента». Аликвоту отфильтрованного экстракта объемом 15 см³ (1/4 часть экстракта, эквивалентная 5 г зерна и 2,5 г соломы и почвы) переносят в коническую колбу или стакан вместимостью 100 см³ и подвергают очистке по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта

Раствор в колбе, полученный по п. 9.2.1. вносят с помощью медицинского шприца на 2 последовательно соединенных концентрирующих патрона C18 Sep Pak, подготовленных по п. 7.12., со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. Пропущенный через патроны раствор собирают в коническую колбу (или химический стакан) вместимостью 100 см³. Далее патроны (не разъединяя) промывают смесью метанол-вода (2:8, по объему) дважды порциями по 5 см³. Все элюаты собирают вместе в конической колбе, перемешивают и вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон Oasis MAX, подготовленный по п. 7.12., со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. После нанесения пробы патрон промывают 5 см³ смеси метанол-вода (3:7, по объему), затем 5 см³ деионизованной воды, элюаты отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 20 см³ 0,1 N серной кислоты, собирая элюат в делительную воронку вместимостью 150 см³. Вносят в воронку 5 см³ насыщенного раствора хлористого натрия и 25 см³ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. Нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 150 см³. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды порциями хлористого метилена по 25 см³. Отстоявшийся слой хлористого

метилена (нижняя фаза) объединяют с ранее полученным экстрактом, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40⁰С. Остаток растворяют в 2,5 см³ смеси растворителей, подготовленной по п. 7.11 (помещая на ультразвуковую баню на 30-40 сек), фильтруют через мембранный фильтр и анализируют содержание тринексапака-кислоты по п. 9.3.2.

9.3. Условия хроматографирования

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирмы Perkin-Elmer, США)

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Кромасил 100 С18, зернением 7 мкм.

Температура колонки: комнатная

Скорость потока элюента: 1 см³/мин

Рабочая длина волны: 280 нм

Объем вводимой пробы: 20 мм³

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

9.3.1. Определение тринексапак-этила

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода – орто-фосфорная кислота (50:50:0,1, по объему)

Ориентировочное время выхода тринексапак-этила: 8,4 – 8,7 мин

Линейный диапазон детектирования 2 – 20 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/см³, разбавляют подвижной фазой № 1, приготовленной по п. 7.7.

9.3.2. Определение тринексапака-кислоты

Подвижная фаза: фосфатный буфер (рН 2) – ацетонитрил (72:28, по объему)

Ориентировочное время выхода тринексапака-кислоты: 10,5 – 10,9 мин

Линейный диапазон детектирования 2 – 20 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/см³, разбавляют смесью растворителей, приготовленной по п. 7.11.

10. Обработка результатов анализа

10.1. Вода

Содержание тринексапак-этила в пробе с учетом его основного метаболита тринексапака-кислоты в эквиваленте действующего вещества (X , мг/дм³) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A + B \cdot K) V}{W}, \text{ где}$$

A , B - концентрации тринексапак-этила и тринексапака-кислоты, соответственно, найденные по градуировочным графикам, мкг/см³;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

W - объем анализируемого образца, см³.

K - коэффициент пересчета содержания тринексапака-кислоты на эквивалент тринексапак-этила, по соотношению молекулярных масс (равен 1,125).

10.2. Почва, растительный материал

Содержание тринексапак-этила в пробе по его основному метаболиту тринексапаку-кислоте в эквиваленте действующего вещества (X , мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{B \cdot K \cdot V \cdot C}{m}, \text{ где}$$

B - концентрация тринексапака-кислоты, найденная по градуировочному графику, мкг/см³;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m - масса анализируемого образца, г.

K - то же;

$C = 4$, с учетом объема экстракта, взятого для анализа.

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), %.

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

*«содержание вещества в пробе воды менее 0,002 мг/дм³»**

*«содержание вещества в пробе зерна менее 0,05 мг/кг»**

*«содержание вещества в пробе соломы и почвы менее 0,1 мг/кг»**

** - 0,002 мг/дм³, 0,05 мг/кг и 0,1 мг/кг - пределы обнаружения в воде, зерне, соломе (почве), 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 внутрिलाбораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки C_0 должна удовлетворять условию:

$$C_d = \Delta_{d,\bar{X}} + \Delta_{d,\bar{X}'},$$

где $\pm \Delta_{d,\bar{X}} (\pm \Delta_{d,\bar{X}'})$ – 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:

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

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:

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C_d,$$

где \bar{X}' , \bar{X} , C_d 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

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

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 (дм³);
 R – предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций, таблица 1), %.

14. Разработчики.

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана); Иванов Г.Е. (Роспотребнадзор).