

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
дикамбы в кукурузном масле методом
капиллярной газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2459—09**

ББК 51.21
О60

О60 Определение остаточных количеств дикамбы в кукурузном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—14 с.

- 1. Разработаны сотрудниками Всероссийского НИИ защиты растений (В. И. Долженко, П. А. Таарин, Т. А. Маханькова, С. И. Редюк).**
- 2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 декабря 2008 г. № 3).**
- 3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 2 февраля 2009 г.**
- 4. Введены в действие с 29 апреля 2009 г.**
- 5. Введены впервые.**

ББК 51.21

**© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009**

УТВЕРЖДЛЮ

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

Г. Г. Онищенко

2 февраля 2009 г.

Дата введения: 29 апреля 2009 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
дикамбы в кукурузном масле методом
капиллярной газожидкостной хроматографии**

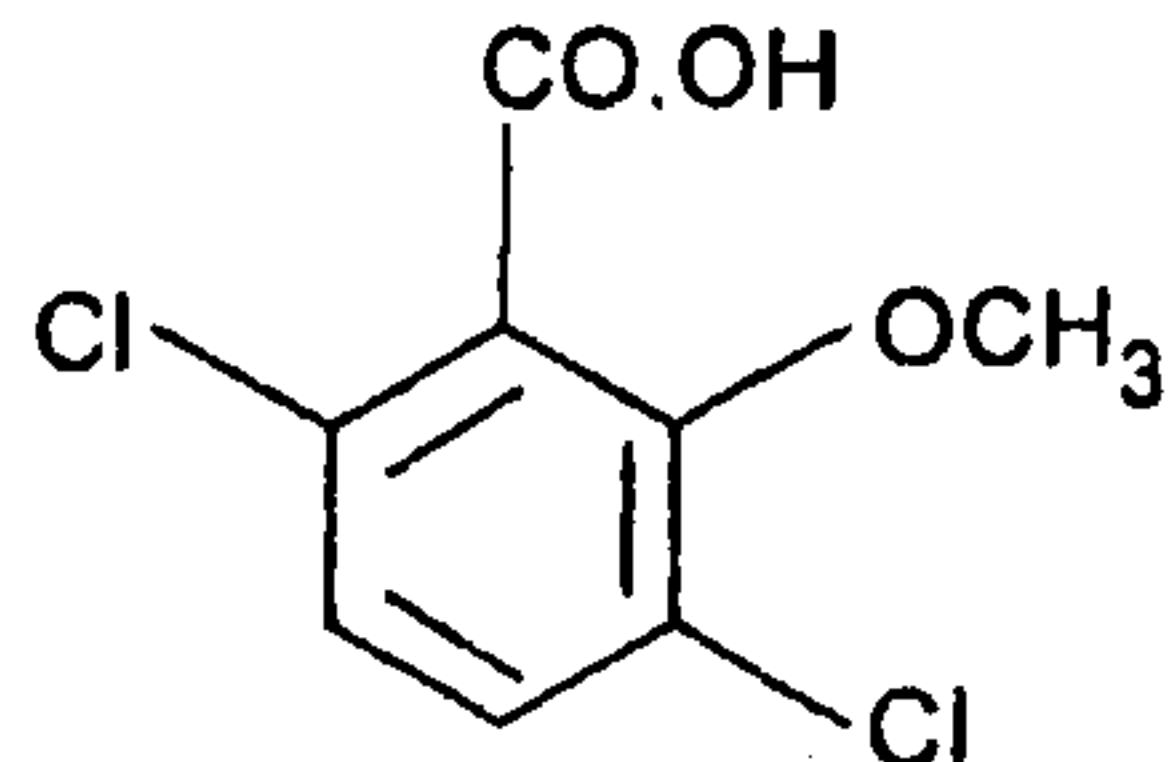
**Методические указания
МУК 4.1.2459—09**

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения остаточных количеств дикамбы в масле кукурузы в диапазоне концентраций 0,005—0,04 мг/кг.

Название по номенклатуре ICO: дикамба.

Название по номенклатуре IUPAC: 3,6-dichloro-o-anisic acid.

Структурная формула:



C₈H₆Cl₂O₃

Мол. масса: 221,0

Химически чистое вещество: кристаллы белого цвета.

МУК 4.1.2459—09

Температура плавления: 114—116 °С.

Растворимость (г/кг) при 25 °С: в воде — 6,5, этаноле — 922, ацетоне — 810, дихлорметане — 260, толуоле — 130.

В обычных условиях дикамба и ее препараты устойчивы, с основаниями дикамба образует хорошо растворимые в воде соли.

Краткая токсикологическая характеристика

Дикамба и ее метаболиты малотоксичны для теплокровных, LD₅₀ для крыс — 2 000—3 000 мг/кг.

Гигиенические нормативы: ПДК в воде водоемов — 0,02 мг/дм³, ПДК в почве — 0,25 мг/кг, МДУ в зерне хлебных злаков, кукурузе, просе — не допускается.

Область применения препарата

Гербицид для борьбы с однолетними и некоторыми многолетними двудольными сорнями растениями на посевах зерновых культур.

1. Определение дикамбы в кукурузном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии

1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении остаточных количеств дикамбы из анализируемого объекта органическими растворителями, проведении очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и метилировании дикамбы диазометаном. Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки с применением капиллярной газожидкостной хроматографии и использованием детектора электронного захвата (ДЭЗ).

1.2. Метрологическая характеристика метода

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

Таблица 1
Метрологические параметры для дикамбы

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta, \%$ $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, $\sigma_r, \%$	Предел повторяемости, $r, \%$	Предел воспроизводимости, $R, \%$
Масло кукурузы	0,005—0,04	50	3,7	10,8	12,5

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

Таблица 2
Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для дикамбы

Объект анализа	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, %
Масло кукурузы	0,005	0,005—0,04	78,7	3,8	5,3

1.3. Избирательность метода

Метод специфичен в присутствии других применяемых пестицидов. Проведение очистки экстрактов, а также использование капиллярной колонки и селективного детектора позволяет устранять влияние коэкстрактивных веществ на результаты анализа.

1.4. Реактивы, растворы, материалы

Аналитический стандарт дикамбы

Азот газообразный высокой чистоты

Ацетон, осч

Ацетонитрил для хроматографии, хч

ТУ 301-07-25---89

ТУ 2633-004-11291058 94

ТУ 6-09-4326—76

МУК 4.1.2459—09

Вата медицинская	ТУ 9393-001-00302238—97
Вода дистиллированная	ГОСТ 7602—72
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375—78
Дихлорметан, хч	ТУ 6-09-2662—77
Изооктан эталонный	ГОСТ 12433—83
Калия гидроокись, чда	ГОСТ 24363—80
Натрий сернокислый б/в (сульфат), чда	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, чда	ГОСТ 4233—77
N-Нитрозометилмочевина, хч	ТУ 6-09-11-1643—82
Серная кислота, осч	ГОСТ 14262—78
Смесь н-гексан:этиловый эфир, 50 : 50, по объему	
Фильтры бумажные, «красная лента»	ТУ 2642-001-42624157—98
Фильтры бумажные, «белая лента»	ТУ 2642-001-42624157—98
Фильтры бумажные, «синяя лента»	ТУ 2642-001-42624157—98
Эфир этиловый (серный)	ОСТ 84-2006—88

1.5. Приборы, аппаратура, посуда

Газовый хроматограф с ДЭЗ	
Колонка хроматографическая кварцевая капиллярная длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой BP-50 (типа OV-17), толщина пленки 0,5 мкм	
Аппарат для встряхивания или аналогичный	ТУ 64-1-1081—73
Весы аналитические типа ВЛА-200	ГОСТ 34104—80
Весы лабораторные типа ВЛКТ-500	ГОСТ 24104—80
Воронки делительные емкостью 250 и 500 см ³	ГОСТ 25336—82
Воронки химические конусные	ГОСТ 25336—82
Индикаторная бумага универсальная	ТУ 6-09-1181—76
Колбы-концентраторы емкостью 250 см ³	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные емкостью 100 и 300 см ³	ГОСТ 25336—82
Колбы мерные со шлифом емкостью 25, 50, 100 см ³	ГОСТ 1770—74
Колпачки алюминиевые для герметизации флаконов	ГОСТ Р.51314—99

Мельница электрическая лабораторная или аналогичная	ТУ 46-22-236—79
Микрошприц МШ-10	ТУ 2-833-106
Насос водоструйный	ГОСТ 10696—75
Ротационный вакуумный испаритель типа ИР-1 или аналогичный	
Пипетки мерные емкостью 1, 2, 5 и 10 см ³	ГОСТ 20292—74
Приспособление для обжима колпачков на флаконах	ТУ 42-2-2442—73
Пробирки мерные со шлифом емкостью 5,0 см ³	ГОСТ 1770—74
Стаканы химические на 100, 200 и 500 см ³	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей при атмосферном давлении.	
Установка для упаривания растворителей в токе азота	
Установка ультразвуковая «Серьга» УЗМ002 или аналогичная	
Флаконы стеклянные (типа пенициллиновых) емкостью 5,0 см ³	ТУ 64-2-10—87
Электроплитка	ГОСТ 14919—83

1.6. Подготовка к определению

1.6.1. Подготовка и очистка растворителей. Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 см³ растворителя упаривают в ротационном вакуумном испарителе при температуре + 40 °C до объема 1,0 см и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с общепринятыми методиками.

1.6.2. Приготовление стандартных растворов. Основной раствор дикамбы с содержанием 100 мкг/см³ готовят растворением в ацетоне 0,01 г аналитического стандарта дикамбы в мерной колбе емкостью 100 см³. Раствор хранят в холодильнике при температуре + 4—6 °C не более трех месяцев.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,8, 0,4, 0,2 и 0,1 мкг/см³ готовят из основного стандартного раствора дикамбы последовательным разбавлением ацетоном. Рабочие растворы хранят в холодильнике при температуре +4—6 °С не более месяца. В модельных опытах при изучении полноты извлечения дикамбы используют ацетоновые растворы стандартного вещества.

Для приготовления калибровочных растворов в мерные пробирки со шлифом емкостью 5,0 см³ вносят по 1,0 см³ рабочих растворов дикамбы с концентрациями 0,1, 0,2, 0,4 и 0,8 мкг/см³. Растворитель в пробирках упаривают в токе азота досуха и проводят метилирование дикамбы по п. 1.6.3.

1.6.3. *Метилирование дикамбы.* В пробирки с сухим остатком добавляют по 2,0 см³ свежеприготовленного по п. 1.6.5 эфирного раствора диазометана. Пробирки закрывают пробками и ставят на 12—14 ч (на ночь) в холодильник с температурой +4—6 °С. После этого этиловый эфир в пробирках упаривают в токе азота досуха и сухой остаток растворяют в 1,0 см³ изооктана.

1.6.4. *Построение калибровочного графика.* Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа (п. 1.8.3) вводят по 1 мкл приготовленных по п. 1.6.3 растворов, содержащих дикамбу (в виде производного) в концентрациях 0,1, 0,2, 0,4 и 0,8 мкг/см³. Осуществляют не менее трех параллельных измерений и находят среднее значение высоты (площади) хроматографического пика для каждой концентрации. Струят калибровочный график зависимости высоты (площади) хроматографического пика в мм (мм²) от концентрации дикамбы в рабочем растворе в мкг/см³.

1.6.5. *Приготовление эфирного раствора диазометана (из расчета метилирования экстрактов 2-х проб).* N-Нитрозометилмочевину массой 0,5 г помещают во флакон емкостью 2,0—3,0 см³ и герметизируют резиновой пробкой и колпачком с помощью приспособления для обжима колпачков на фланонах. Этиловый эфир объемом 4,0 см³ вносят в другой фланон емкостью 5,0 см³, герметизируют резиновой пробкой и колпачком и охлаждают в морозильной камере холодильника в течение 30 мин.

После этого фланоны через предварительно проколотые пробки соединяют гибкой тефлоновой трубкой (внутр.диам. ~ 1,5—2,0 мм), одним

концом погружая ее в этиловый эфир на всю глубину (флакон с охлажденным этиловым эфиром обязательно должен еще иметь свободный выход в атмосферу). Во флакон с нитрозометилмочевиной, используя шприц с тонкой иглой и прокалывая пробку, добавляют по каплям по стенке 50 % водный раствор гидроокиси калия ($\sim 0,3 \text{ см}^3$) до прекращения реакции. Этиловый эфир при насыщении диазометаном окрашивается в ярко желтый цвет.

Внимание! Приготовление эфирного раствора диазометана и процедуру метилирования необходимо проводить в работающем вытяжном шкафу.

1.7. Отбор, первичная обработка и хранение проб

Отбор проб для анализа проводят в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.1979 года, а также в соответствии с ГОСТ 8808—91 «Масло кукурузное, ТУ».

Для исследовательских целей допускается получение масла в лаборатории из проб измельченного зерна методом экстракции органическим растворителем при температуре не выше + 40 °С. Пробы масла хранят при + 4—6 °С в закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре не более 30 суток.

1.8. Проведение определения

1.8.1. Экстракция дикамбы. Аналитическую пробу масла массой $10,0 \pm 0,1 \text{ г}$ растворяют в 50 см^3 н-гексана (насыщенного ацетонитрилом) в плоскодонной колбе емкостью 100 см^3 и после этого гексановый раствор масла переносят в делительную воронку емкостью 250 см^3 . Колбу промывают 50 см^3 ацетонитрила (насыщенного н-гексаном) и переносят его в воронку. Содержимое воронки встряхивают в течение 2 мин. После 5-ти минутного отстаивания нижний ацетонитрильный слой сливают в колбу-концентратор емкостью 250 см^3 . Плоскодонную колбу промывают 25 см^3 ацетонитрила (насыщенного н-гексаном) и также переносят в воронку (250 см^3). Содержимое воронки встряхивают в течение 2 мин, отстаивают 5 мин и нижний ацетонитрильный слой объединяют с предыдущим. Верхний гексановый слой отбрасывают.

Колбу-концентратор с объединенным ацетонитрильным экстрактом подсоединяют к ротационному вакуумному испарителю и упаривают растворитель досуха при температуре 50 °С. Сухой остаток растворяют в 20 см³ ацетона. К раствору добавляют 200 см³ дистиллированной воды, 2,0 см³ 5,0 % водного раствора серной кислоты и содержимое колбы перемешивают встряхиванием. Колбу-концентратор помещают в холодильник и выдерживают при температуре +4—6 °С в течение 4—5 ч. После этого содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр белая лента в делительную воронку емкостью 500 см³. В воронку добавляют 10 % водный раствор гидроокиси калия до pH 9—10, 10 см³ насыщенного водного раствора хлористого натрия и, после перемешивания, 75 см³ дихлорметана. Содержимое воронки энергично встряхивают в течение 2 мин. После 15-ти минутного отстаивания нижний дихлорметановый слой сливают и отбрасывают. Процедуру очистки экстракта с использованием 50 см³ дихлорметана повторяют. Далее в воронку добавляют 40 см³ насыщенного водного раствора хлористого натрия и, после перемешивания, 75 см³ н-гексана. Содержимое воронки энергично встряхивают в течение 2 мин. После 5-ти минутного отстаивания нижний ацетоно-водный слой сливают в химический стакан емкостью 500 см³, а верхний гексановый слой сливают и отбрасывают.

Водный раствор пробы, находящийся в химическом стакане, подкисляют концентрированной серной кислотой до pH 2,0 и переносят в чистую делительную воронку емкостью 500 см³. В воронку добавляют 75 см³ смеси гексан-этиловый эфир (50 : 50) и встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой сливают в химический стакан, а верхний гексано-эфирный слой фильтруют через фильтр синяя лента со слоем безводного сульфата натрия (толщина слоя ~ 1,0—1,5 см) в колбу-концентратор емкостью 250 см³. Экстрагирование и фильтрование повторяют с использованием 50 см³ смеси гексан-этиловый эфир (50 : 50). Нижний водный слой отбрасывают.

Колбу-концентратор с объединенным гексано-эфирным экстрактом подсоединяют к ротационному вакуумному испарителю и упаривают растворители при температуре +40 °С до объема 3—5 см³. Остаток экстракта количественно переносят в мерную пробирку со шлифом емко-

стью 5,0 см³ и упаривают растворители в токе азота досуха при температуре + 40 °С.

1.8.2. Метилирование дикамбы. В пробирку с сухим остатком добавляют 2,0 см³ свежеприготовленного по п. 1.6.5 эфирного раствора диазометана. Пробирку закрывают пробкой и ставят на 12—14 ч (на ночь) в холодильник с температурой + 4—6 °С. После этого этиловый эфир в пробирках упаривают в токе азота досуха и сухой остаток растворяют в 0,5 см³ изооктана.

Газохроматографический анализ на содержание дикамбы проводят по п. 1.8.3.

1.8.3. Условия хроматографирования. Газовый хроматограф с ДЭЗ.

Колонка хроматографическая кварцевая капиллярная длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой BP-50 (типа OV-17), толщина слоя 0,5 мкм.

Температура колонки: программирование от 80 °С (1 мин) до 280 °С (25 мин) со скоростью 8,0 °С/мин.

Температура испарителя: 240 °С.

Температура детектора: 300 °С.

Расход газов: газа-носителя (азот в/ч) – 2,0 см³/мин, дополнительного газа (азот в/ч) к ДЭЗ – 40 см³/мин.

Количество вводимой в хроматограф аликовты: 1 мкл.

Время удерживания дикамбы (в виде производного): 14,75 ± 0,05 мин.

Предел детектирования: 0,05 нг.

Линейный диапазон детектирования: 0,1—0,8 нг.

1.8.4. Обработка результатов анализа. Содержание дикамбы рассчитывают методом внешнего стандарта по формуле:

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

X – содержание дикамбы в пробе, мг/кг,

H_1 – высота (площадь) пика анализируемого вещества, мм (мм²),

H_0 – высота (площадь) пика стандартного вещества, мм (мм²),

A – концентрация стандартного раствора дикамбы, мкг/см³,

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³,

m – масса (г) аналитической пробы.

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости ($r = 2,8\sigma_r$).

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

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

«содержание вещества в пробе менее 0,005 мг/кг»

2. 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».

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки C_d должна удовлетворять условию:

$$C_{\delta} = \Delta_{\frac{X}{X'}} + \Delta_{\frac{\bar{X}}{X'}}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{\frac{X}{X'}} (\pm \Delta_{\frac{\bar{X}}{X'}})$ – 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:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \overline{X'} - \overline{X} - C_{\delta}, \text{ где}$$

$\overline{X'}, \overline{X}, C_{\delta}$ – 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:

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

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.

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

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

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

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

3. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами, ГОСТ 12.1005—88.

При выполнении измерений с использованием хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.019—79 и инструкциями по эксплуатации приборов.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91.

Необходимо соблюдать общепринятые правила техники безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами, а также требования, изложенные в документации к приборам.

4. Требования к квалификации оператора

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом газожидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 5.

5. Разработчики

Долженко В. И., Таарин П. А., Маханькова Т. А., Редюк С. И.
(ГПУ ВНИИ защиты растений).

**Определение остаточных количеств
дикамбы в кукурузном масле методом
капиллярной газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2459—09**

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 31.07.09

Формат 60x88/16

Печ. л. 1,0

Тираж 200 экз.

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

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 952-50-89