

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

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

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2162—4.1.2176—07

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 — 221с.

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

Печ. л. 14

Тираж 100 экз.

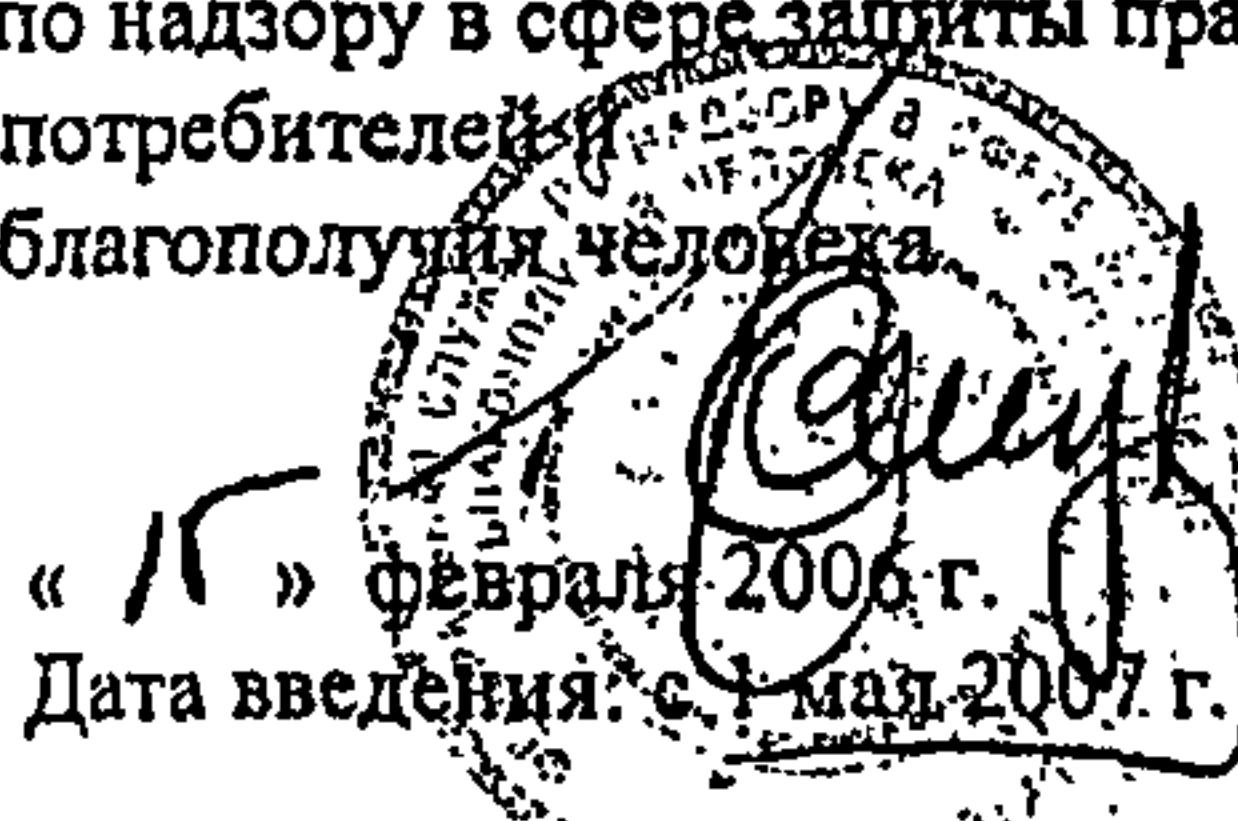
Тиражировано отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

Содержание

| | |
|---|-----|
| 1. Определение остаточных количеств 2,4-Д в масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2162-07..... | 4 |
| 2. Определение остаточных количеств галоксифопа-р-метила и галоксифопа-р в воде, галоксифопа-р в почве, зеленой массе растений, клубнях картофеля, корнеплодах сахарной, кормовой и столовой свеклы, семенах и масле льна, рапса, сои, подсолнечника методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2163-07..... | 17 |
| 3. Определение остаточных количеств дифеноконазола в картофеле, моркови и томатах методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2164-07..... | 42 |
| 4. Определение остаточных количеств зета-циперметрина в семенах рапса, масле рапса (горчицы) методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2165-07..... | 56 |
| 5. Определение остаточных количеств ипредиона в огурцах и томатах методом высокоеффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2166-07..... | 69 |
| 6. Определение остаточных количеств каптана и фолпета в воде, почве, каптана в яблоках, фолпета в клубнях картофеля и винограде методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2167-07..... | 83 |
| 7. Определение остаточных количеств клопирадида в капусте, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2168-07..... | 99 |
| 8. Определение остаточных количеств метамитрона в ботве и корнеплодах столовой и кормовой свеклы методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2169-07..... | 113 |
| 9. Определение остаточных количеств прометрина в семенах кориандра методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2170-07..... | 125 |
| 10. Определение остаточных количеств римсульфурана в клубнях картофеля методом высокоеффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2171-07..... | 138 |
| 11. Определение остаточных количеств тау-флувалината в зерне и соломе зерновых культур, в ягодах и соке винограда, зеленой массе пастбищных трав, семенах и масле рапса, сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2172-07..... | 147 |
| 12. Определение остаточных количеств тиаметоксамина в луке, ягодах и соке винограда методом высокоеффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2173-07..... | 163 |
| 13. Определение остаточных количеств фамоксадона в плодах томатов, ягодах винограда, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом высокоеффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2174-07..... | 178 |
| 14. Определение остаточных количеств цимоксанила в томатах, винограде, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2175-07..... | 198 |
| 15. Измерение концентраций 2,4 D этилгексилового эфира в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2176-07..... | 212 |

УТВЕРЖДАЮ

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



Г. Онищенко

« 15 » февраля 2006 г.

Дата введения: с 1 мая 2007 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тиаметоксама в луке, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

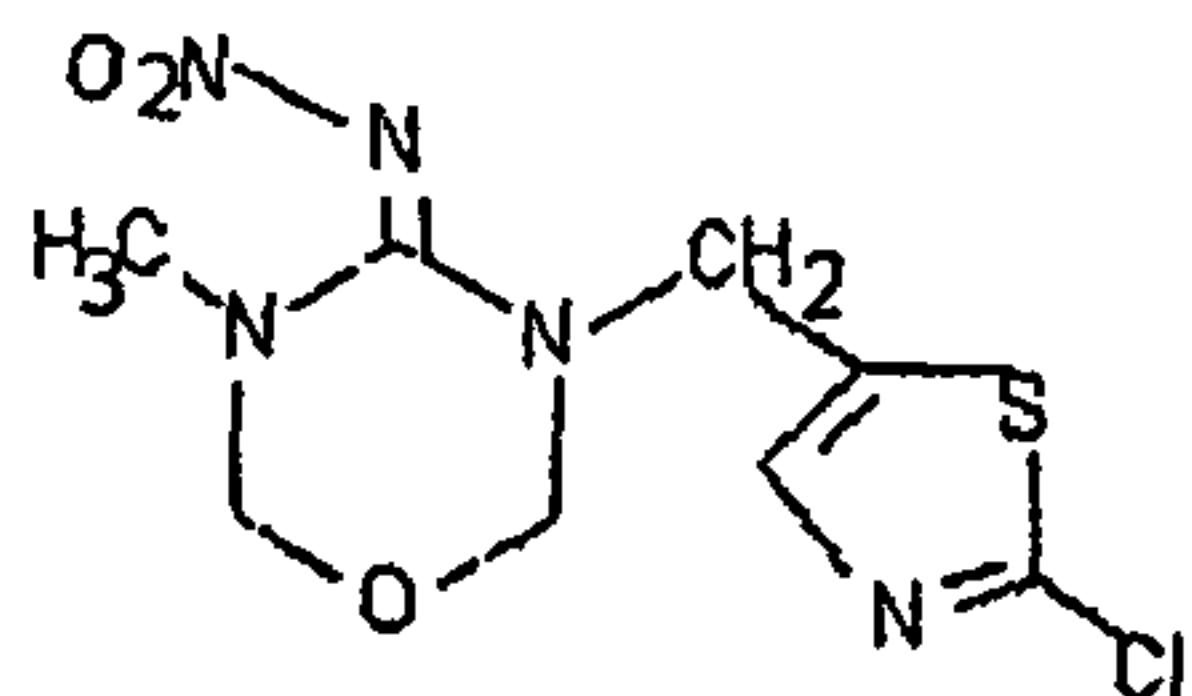
Методические указания МУК 4.1.273-07

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тиаметоксама в луке и ягодах винограда в диапазоне 0,05-0,5 мг/кг, в соке винограда в диапазоне 0,025-0,25 мг/кг.

Тиаметоксам – действующее вещество инсектицида Актара, ВДГ (250 г/кг), фирма производитель Сингента Кроп Протекшн АГ (Швейцария).

3-(2-хлор-тиазол-5-илметил)-5-метил-[1,3,5]оксациазинан-4-илиден-N-нитроамин
(ИЛОПАК)

3-[(2-хлор-5-тиазолил) метил] тетрагидро-5-метил-N-нитро-4Н-1,3,5-оксациазин-4-имин (С.А.)



Мол. масса: 291,7

Белый кристаллический порошок без запаха. Температура плавления: 139,1°C.

Давление паров при 25⁰С: 6,6 x 10⁻⁹Па. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = -0,13. Растворимость (г/л) при 25⁰С: ацетонитрил - 78, ацетон - 42,5, дихлорметан - 43, метанол - 10,2, этилацетат - 5,7, толуол - 0,6, вода - 4,1.

Вещество медленно гидролизуется в водных растворах при pH 5 и 7 (DT₅₀ = более 1 года) и значительно быстрее при pH 9 (DT₅₀ = 4,2 дня).

В присутствии света в водных фотолитических условиях тиаметоксам быстро деградирует с периодом полураспада 2,3 дня.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD₅₀) для крыс - 1560 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD₅₀) для крыс - более 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC₅₀) для крыс - более 3720 мг/м³ воздуха. Тиаметоксам не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика. LC₅₀ для рыб - более 100 мг/л (96 час.).

Инсектицид нетоксичен для птиц, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов и токсичен для пчел.

Гигиенические нормативы для тиаметоксами в России: ПДК в почве - 0,2 мг/кг; ПДК в воде - 0,1 мг/дм³; ОБУВ в воздухе рабочей зоны - 0,4 мг/м³; МДУ для зерна хлебных злаков, картофеля, огурцов, гороха, капусты, свеклы сахарной и кормовой, горчицы и рапса (семена и масло) - 0,05 мг/кг, яблок, груш и смородины - 0,1 мг/кг.

Рекомендуемый норматив для тиаметоксами в ягодах и соке винограда - 0,1 мг/кг, в луке - 0,05 мг/кг.

Область применения препарата

Тиаметоксам является системным инсектицидом. Он воздействует на никотиново-ацетилхолиновый рецептор нервной системы насекомых, обладает быстрой желудочкой и контактной активностью. Вещество проявляет высокую эффективность против сосущих, грызущих и почвенных насекомых на овощных, зерновых и цветочных культурах, фруктовых и цитрусовых деревьях, хлопчатнике и рисе.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ под торговым названием Актара, ВДГ (250 г тиаметоксами в 1 кг препарата). Препарат предназначен для борьбы с луковой мухой, тлями, трипсами, белокрылкой на посевах лука и виноградниках путем обработки вегетирующих растений при норме расхода до 0,8 кг/га.

1. Метрологические характеристики метода

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

Таблица 1

Метрологические параметры

| Анализируемый объект | Диапазон определяемых концентраций мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, % | Стандартное отклонение повторяемости s_r , % | Предел повторяемости, r , % | Предел воспроизведимости, R , % |
|----------------------|--|--|--|-------------------------------|-----------------------------------|
| Ягоды винограда | от 0,05 до 0,1 вкл. | 50 | 3,7 | 10,4 | 16,1 |
| | более 0,1 до 0,5 | 25 | 2,6 | 7,3 | 11,3 |
| Сок винограда | от 0,025 до 0,1 вкл. | 50 | 3,3 | 9,2 | 14,4 |
| | более 0,1 до 0,25 | 25 | 3,1 | 8,7 | 13,5 |
| Лук | от 0,05 до 0,1 вкл. | 50 | 3,0 | 8,4 | 13,2 |
| | более 0,1 до 0,5 | 25 | 3,0 | 8,4 | 13,0 |

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

Таблица 2

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

| Анализируемый объект | Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$ | | | | |
|----------------------|--|--|---------------------------------|---------------------------------|---|
| | Предел обнаружения, мг/кг | Диапазон определяемых концентраций мг/кг | Среднее значение определения, % | Стандартное отклонение, S , % | Доверительный интервал среднего результата, $\pm\%$ |
| Ягоды винограда | 0,05 | 0,05-0,5 | 85,0 | 3,2 | $\pm 3,0$ |
| Сок винограда | 0,025 | 0,025-0,25 | 85,5 | 3,5 | $\pm 3,2$ |
| Лук | 0,05 | 0,05-0,5 | 83,3 | 3,3 | $\pm 3,1$ |

2. Метод измерений

Методика основана на определении тиаметоксама с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Контроль тиаметоксама в образцах лука, ягод и сока винограда осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из сока хлористым метиленом, из лука и ягод водным ацетоном, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак C8.

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 (фирма Knauf, Германия) | Номер Госреестра №16848-03 |
| Весы аналитические ВЛА-200 | ГОСТ 2104 |
| Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г | ГОСТ 7328 |
| Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2 | ГОСТ 1770 |
| Меры массы | ГОСТ 7328 |
| Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 см ³ | ГОСТ 29227 |
| Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 см ³ | ГОСТ 1770 |
| Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 см ³ | ГОСТ 1770 |

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими
характеристиками.

3.2. Реактивы

| | |
|--|--------------|
| Тиаметоксам, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,3% (Сингента, Швейцария) | |
| Ацетон, чда | ГОСТ 2603-79 |

| | |
|--|-----------------|
| Ацетонитрил для хроматографии, хч | ТУ 6-09-3534-87 |
| Вода бидистиллированная или деионизованная | ГОСТ 6702 |
| н-Гексан, хч | ТУ 6-09-3375 |
| Метилен хлористый (дихлорметан), хч | ГОСТ 12794 |
| Метиловый спирт (метанол), хч | ГОСТ 6995 |
| Натрий сернокислый, безводный, хч | ГОСТ 4166 |
| Натрий хлористый, хч | ГОСТ 4233 |

Допускается использование реагентов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

| | |
|--|-------------------------|
| Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США) | |
| Воронка Бюхнера | ГОСТ 0147 |
| Воронки делительные вместимостью 100 см ³ | ГОСТ 25336 |
| Воронки конусные диаметром 30-37 мм | ГОСТ 25336 |
| Гомогенизатор | МРТУ 42-1505 |
| Дефлегматор елочный | ГОСТ 9737 |
| Колба Бунзена вместимостью 250 см ³ | ГОСТ 5614 |
| Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 и 250 см ³ | ГОСТ 9737 |
| Колбы плоскодонные вместимостью 250 см ³ | ГОСТ 9737 |
| Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм | |
| Колонка хроматографическая, стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-C18 (5 мкм) (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва) | ТУ 4215-001-05451931-94 |
| Насос водоструйный вакуумный | ГОСТ 10696 |
| Патроны концентрирующие Диапак C8 (0,6 г), (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва) | ТУ 4215-002-05451931-94 |
| Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель B-169 фирмы Buchi (Швейцария) | ТУ 25-11-917-74 |
| Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, Германия) I степени активности | |
| Стаканы химические вместимостью 100 и 500 см ³ | ГОСТ 25336 |
| Стекловата | |

Установка для перегонки растворителей
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные ТУ 6-09-2678-77
или фильтры из хроматографической бумаги Ватман ЗММ
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа
вместимостью 100 мм³, модель Microliter # 1710 (Hamilton, США)
Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 20 см³ ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими
характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники
безопасности при работе с химическими веществами 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+5)°С 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 органических
растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подвижной фазы для
ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление

градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. 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.

7.1.2. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания ее в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.3. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

7.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель 60 (0,063-0,20 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130⁰С в течение 5 часов.

7.2. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8

для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 20 см³ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 см³ ацетона и 30 см³ смеси гексан-ацетон (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 10 см³ ацетонитрила и 10 см³ смеси ацетонитрил-вода (5:95, по объему) со скоростью 5 см³/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения тиаметоксама на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,1 см³ градуировочного раствора № 1 тиаметоксама с концентрацией 10 мкг/см³ в метаноле (п. 7.6.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см³ смеси гексан-ацетон (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 40 см³ смеси гексан-ацетон (1:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 40 см³ смеси гексан-ацетон (4:6, по объему). Фракционно (по 10 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см³ метанола, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 3,5 см³ подвижной фазы, подготовленной по п. 7.4., перемешивают и анализируют на содержание тиаметоксама по п.9.5.

7.4. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 330 см³ метанола, 670 см³ бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.4.) при скорости подачи растворителя 1 см³/мин не менее 2-х часов до установления стабильной базовой линии.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходный раствор тиаметоксама для градуировки (концентрация 100 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,010 г тиаметоксама, растворяют в 40-50 см³ метанола, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше -18°C в течение 3-х месяцев.

7.6.2. Раствор тиаметоксама №1 для градуировки (концентрация 2 мкг/см³).

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 2 см³ исходного раствора тиаметоксама с концентрацией 100 мкг/см³ (п.7.6.1.), разбавляют метанолом до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб лука, ягод и сока винограда с внесением при оценке полноты извлечения тиаметоксама из исследуемых образцов используют метанольный раствор тиаметоксама с концентрацией 1 мкг/см³.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше -18⁰С в течение месяца.

7.6.3. Рабочие растворы №№ 2-5 тиаметоксама для градуировки (концентрация 0,02-0,2 мкг/см³).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см³ градуированного раствора № 1 тиаметоксама с концентрацией 2 мкг/см³ (п.7.6.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.4., тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией тиаметоксама 0,02, 0,04, 0,1 и 0,2 мкг/см³, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Установление градуировочной характеристики

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

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм³ каждого градуированного раствора (п.7.6.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 25896-83 «Виноград свежий столовый».

Пробы ягод и луковиц хранят в стеклянной посуде в холодильнике при температуре 4⁰С не более 2-х дней; при длительном хранении пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре -18⁰С. Сок получают из ягод непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом луковицы и ягоды измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция тиаметоксама

9.1.1. Ягоды, луковицы. Навеску (25 г) измельченного растительного материала помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см³, приливают 100 см³ 50%-ного водного ацетона и гомогенизируют 5 минут при 8000 об/мин. Раствор (с осадком) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см³. Осадок на фильтре промывают 50 см³ 50%-ного водного ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/5 его часть (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см³. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2.

9.1.2. Сок. Навеску (10 г) свежевыжатого сока помещают в химический стакан вместимостью 100 см³, приливают 20 см³ десорбированной воды, 15 см³ насыщенного раствора хлорида натрия и перемешивают. Содержимое переносят в делительную воронку вместимостью 100 см³, приливают 30 см³ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 250 см³. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см³ хлористого метилена. Объединенную органическую фракцию, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3. и 9.4.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Отобранные аликовты экстрактов ягод и луковиц (из пп. 9.1.1.) упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (10-15 см³) при температуре 40°С. К водному остатку приливают 15 см³ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см³. В воронку вносят 15 см³ гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижнюю водную фазу собирают в делительную воронку вместимостью 100 см³, а верхний гексановый слой отбрасывают. В воронку вносят 30 см³ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 250 см³. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см³ хлористого метилена. Объединенную органическую

фазу, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30°C и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем и концентрирующим патроне Диапак C8 по пп. 9.3. и 9.4.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухие остатки в круглодонной колбе, полученные по пп. 9.1.2. и 9.2., растворяют в 0,5 см³ ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,5 см³ гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 5 см³ смеси гексан-ацетон (1:1, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 35 см³ смеси гексан-ацетон (1:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Тиаметоксам элюируют с колонки 35 см³ смеси гексан-ацетон (4:6, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см³. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30°C.

9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак C8

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п.9.3., растворяют в 0,2 см³ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,8 см³ дейонизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на концентрирующий патрон Диапак C8, подготовленный по п.7.2., элюат отбрасывают. Колонку промывают 7 см³ смеси ацетонитрил-вода (5:95, по объему), элюат отбрасывают. Тиаметоксам элюируют с патрона 3 см³ смеси ацетонитрил-вода (2:8, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу. Раствор упаривают досуха при температуре не выше 40°C. Остаток в колбе растворяют в 1 см³ метанола, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 1,5 см³ подвижной фазы, подготовленной по п.7.3., перемешивают и анализируют на содержание тиаметоксама по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирма Клаусер, Германия)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая в качестве неподвижной фазы Диасфер 110-C18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: метанол-вода (33:67, по объему)
Скорость потока элюента: 0,7 см³/мин
Рабочая длина волны: 255 нм
Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу
Объем вводимой пробы: 20 мм³
Время удерживания тиаметоксама: около 5 минут
Линейный диапазон детектирования 0,4 - 4 нг
Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-C8 T (6 мкм)
Время удерживания тиаметоксама: около 4 мин 40 сек.
Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,2 мкг/см³, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

10. Обработка результатов анализа

Содержание тиаметоксама рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание тиаметоксама в пробе, мг/кг;

H₁ - высота пика образца, мм;

H₀ - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора тиаметоксама, мкг/см³;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m - масса анализируемой части образца, г (для ягод и луковиц – 5 г; для сока – 10 г).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

где X₁, X₂ - результаты параллельных определений, мг/кг;

r - значение предела повторяемости (таблица 1), при этом r = 2,8σ_r.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

менее 0,025 мг/кг* для сока и менее 0,05 мг/кг ** для ягод винограда и лука

* 0,025 мг/кг - предел обнаружения для сока.

** 0,05 мг/кг - предел обнаружения для ягод и лукович

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6-2002 « Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки C_d должна удовлетворять условию:

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

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

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

где Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C_\delta,$$

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, концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля K рассчитывают по формуле

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

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;

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

14. Разработчики

Талалакина Т.Н., науч. сотр; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук.

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

Тал/

Подпись руки Талалакиной Т.Н., Макеева А.М. заверяю

/ Зав. канцелярией ВНИИФ (Банюрис Г.Г.)

