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. Тарарин, 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

УТВЕРЖДАЮ
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

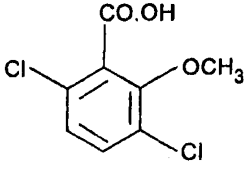
Методические указания МУК 4.1.2459—09

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:



$C_8H_6Cl_2O_3$
Мол. масса: 221,0

Химически чистое вещество: кристаллы белого цвета.

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, LD_{50} для крыс – 2 000—3 000 мг/кг.

Гигиенические нормативы: ПДК в воде водоемов – 0,02 мг/дм^3, 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 сорными 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 $P = 0,95$ 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), ±δ, % P = 0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_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 определямых 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 ТУ 301-07-25—89

Ацетон, осч ТУ 2633-004-11291058 94

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

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 $см^3$ растворителя упаривают в ротационном вакуумном испарителе при температуре + 40 °С 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/$см^3$ готовят растворением в ацетоне 0,01 г аналитического стандарта дикамбы в мерной колбе емкостью 100 $см^3$. Раствор хранят в холодильнике при температуре + 4—6 °С не более трех месяцев.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,8, 0,4, 0,2 и 0,1 мкг/см^3 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 см^3 вносят по 1,0 см^3 рабочих растворов дикамбы с концентрациями 0,1, 0,2, 0,4 и 0,8 мкг/см^3. 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 см^3 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 см^3 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/см^3. Осуществляют не менее трех параллельных измерений и находят среднее значение высоты (площади) хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты (площади) хроматографического пика в мм (мм^2) от концентрации дикамбы в рабочем растворе в мкг/см^3.

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 см^3 и герметизируют резиновой пробкой и колпачком с помощью приспособления для обжима колпачков на флаконах. Этиловый эфир объемом 4,0 см^3 вносят в другой флакон емкостью 5,0 см^3, герметизируют резиновой пробкой и колпачком и охлаждают в морозильной камере холодильника в течение 30 мин.

После этого флаконы 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 (~ 0,3 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 ± 0,1 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 см^3 ацетона. К раствору добавляют 200 см^3 дистиллированной воды, 2,0 см^3 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 см^3. В воронку добавляют 10 % водный раствор гидроокиси калия до pH 9—10, 10 см^3 насыщенного водного раствора хлористого натрия и, после перемешивания, 75 см^3 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 см^3 дихлорметана повторяют. Далее в воронку добавляют 40 см^3 насыщенного водного раствора хлористого натрия и, после перемешивания, 75 см^3 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 см^3, 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 см^3. В воронку добавляют 75 см^3 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 см^3. Экстрагирование и фильтрование повторяют с использованием 50 см^3 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 см^3. Остаток экстракта количественно переносят в мерную пробирку со шлифом емко-

стью 5,0 см^3 и упаривают растворители в токе азота досуха при температуре + 40 °С.

1.8.2. *Метилирование дикамбы.* В пробирку с сухим остатком добавляют 2,0 см^3 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 см^3 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 ВР-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 см^3/мин, дополнительного газа (азот в/ч) к ДЭЗ – 40 см^3/мин.

Количество вводимой в хроматограф аликвоты: 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 (мм^2),

H_0 – высота (площадь) пика стандартного вещества, мм (мм^2),

A – концентрация стандартного раствора дикамбы, мкг/см^3,

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3,

m – масса (г) аналитической пробы.

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

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

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:

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

$\overline{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемемыми, мг/кг;

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), %.

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 $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д = \Delta_{л,\overline{X}} + \Delta_{л,\overline{X'}}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\overline{X}}(\pm\Delta_{л,\overline{X'}})$ – 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:

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

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 $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_K = \overline{X'} - \overline{X} - C_д, \text{ где}$$

$\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ – 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:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\overline{X'}} + \Delta^2_{л,\overline{X}}}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры *($K_к$)* с нормативом контроля *(K)*.

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_K| \le K \qquad (2)$$

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)

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

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 специалиси-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., Тарарин П. А., Маханькова Т. А., Редюк С. И. (ГНУ 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