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 ипродиона в огурцах и томатах методом высокоэффективной 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 клопиралида 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 римсульфурона в клубнях картофеля методом высокоэффективной 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 тиаметоксама в луке, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной 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 высокоэффективной 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.Г. Онищенко

«11» февраля 2007 г.
Дата введения: с 1 мая 2007 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.1.2172–07

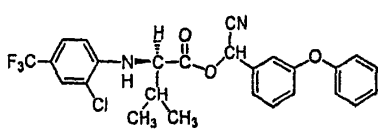
Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации Тау-флувалината в зерне зерновых культур в диапазоне 0,01 - 0,1 мг/кг; в соломе зерновых культур в диапазоне 0,04 - 0,4 мг/кг; в ягодах и соке винограда, масле рапса (сои) в диапазоне 0,1 - 1,0 мг/кг; в зеленой массе с искусственных злаковых пастбищ и семенах рапса (сои) в диапазоне 0,05 – 0,5 мг/кг.

Фирма производитель: Мактешим-Аган Индастриз Лтд (Израиль);

Торговое название: Маврик.

Название действующего вещества по ИСО: Тау-флувалинат.

Название по ИЮПАК: (RS)- α-циано 3-феноксибензил-N- (2-хлор- α, α, α-трифтор-*p*-толил-D-валинат



Эмпирическая формула: $C_{26}H_{22}ClF_3N_2O_3$.

Молекулярная масса: 502,9.

Агрегатное состояние: вязкая жидкость;

Цвет, запах: желтоватого цвета;

Давление насыщенного пара $9{,}0 \times 10^{-8}$ мПа при 20°С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода при 25° С: K_{ow} lgP= 4,26.

Растворим в органических растворителях, практически нерастворим в воде.

Устойчив на свету. Стабилен при хранении в течение 2-х лет при температуре 20-28^{0}С.

Краткая токсикологическая характеристика: Тау-флувалинат относится к умеренно опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ (крысы) 261 мг/кг), к опасным веществам по ингаляционной [$ЛК_{50}$ (4 час) для крыс > 560 мг/м^3 воздуха] и к мало опасным веществам по накожной ($ЛД_{50}$ для кроликов > 2000 мг/кг) токсичности.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД - 0,005 мг/кг/сутки;

МДУ в зерне хлебных злаков - 0,01, в винограде – 0,2, в рапсе – 0,1 мг/кг, в сои (семена и масло) -нд.

Тау-флувалинат - инсектицид из группы синтетических пиретроидов контактного и кишечного действия с выраженным акарицидным действием. Он эффективно подавляет развитие вредителей из отрядов жесткокрылых, чешуекрылых, двукрылых и плодовых клещей.

Производится фирмой Мактешим Аган в виде водной эмульсии с содержанием действующего вещества 240 г/л.

Зарегистрирован в России под торговым названием Маврик, ВЭ, 240 г/л для борьбы с грызущими и сосущими насекомыми с нормой расхода 0,2 – 1,6 л на га в зависимости от культуры и вредителя в посевах пшеницы, ячменя, рапса, сои, льна, в посадках картофеля, винограда, на пастбищах и в городских зеленых насаждениях.

1. 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 Таблице 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1.

Метрологические параметры для Тау-флувалината (сумма изомеров по двум характерным пикам)

Анализируемый объект	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, %
Зерно пшеницы	0,01 – 0,1	50	4	11	13
Солома пшеницы	0,04 – 0,08	50	4	11	13
	0,2-0,4	25	5	14	17
Семена рапса и сои	0,05-0,1	50	3	8	10
	0,25-0,5	25	3	8	10
Масло рапса и сои	0,1 – 1,0	25	4	11	13
Ягоды винограда	0,1 – 1,0	25	3	8	10
Сок винограда	0,1 – 1,0	25	3	8	10
Зеленая масса пастбищных трав	0,05-0,1	50	3	8	10
	0,25-0,5	25	3	8	10

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

Таблица 2.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для Тау-флувалината (сумма изомеров по двум характерным пикам).

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, ±, %
Зерно пшеницы	0,01	0,01 – 0,1	89,8	3,7	± 1,5
Солома пшеницы	0,04	0,04 – 0,4	77,9	4,9	± 1,8
Семена рапса и сои	0,05	0,05 – 0,5	89,9	3,8	± 1,6
Масло рапса	0,1	0,1 – 1,0	89,2	3,5	± 1,5
Ягоды винограда	0,1	0,1 – 1,0	81,7	2,7	± 1,0
Сок винограда	0,1	0,1 – 1,0	84,8	2,8	± 1,1
Зеленая масса пастбищных трав	0,05	0,05 – 0,5	90,7	3,2	± 1,4

2. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ.

Метод основан на извлечении Тау-флувалината из зерна и соломы пшеницы 70% водным раствором ацетона, переэкстракции в гексан, очистке полученного экстракта от мешающих анализу веществ на колонке с Флоризилом и окончательном определении Тау-флувалината методом ГЖХ с использованием детектора по захвату электронов.

Из ягод и сока винограда Тау-флувалинат извлекают ацетонитрилом и далее проводят очистку проб по общей схеме.

Идентификация проводится по времени удерживания двух характерных пиков. Количественное определение – методом абсолютных калибровок по двум характерным пикам.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается путем подбора капиллярной колонки и условий программирования температуры.

3. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, РЕАКТИВЫ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА И МАТЕРИАЛЫ.

3.1. Средства измерений.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные.

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г, ГОСТ 19491-74.

Колбы мерные на 25, 50, 100 см^3, ГОСТ 1770-74.

Мерные цилиндры на 10, 25 и 50 см^3, ГОСТ 1770-74.

Микрошприц на 10 мкл, ТУ 2.833.106.

Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см^3, ГОСТ 20292-74.

Хроматограф газовый HP6890 с электронозахватным детектором (ECD).

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы.

Аналитический стандарт Тау-флувалината с содержанием 91,6% д.в. (фирма Мактешим Аган);

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон х.ч., ТУ 6-09-3513-86.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Гелий, очищенный марки "А", ТУ 51-940-80.

Калий марганцовокислый, ч.д.а., ГОСТ 20490-75.

Натрий сернокислый, безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76.

Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Флоризил для колоночной хроматографии с размером частиц 60 – 100 меш, фирма "Мерк".

Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.

Стандартный раствор Тау-флувалината в ацетоне – 1 мг/мл (хранить в холодильнике, срок годности 120 суток).

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы.

Аппарат для встряхивания проб АВУ-1, ТУ 64-1-1081-73.

Ванна ультразвуковая "Серьга", ТУ 3.836.008.

Воронки химические для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

Воронки делительные на 250 см^3, ГОСТ 10054-75.

Вакуумный ротационный испаритель МР-1М, ТУ 25-11-917-74.

Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi или ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 с водяной баней;

Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 см^3, КПШ-100, КПШ-250, ГОСТ 10394-72.

Концентраторы грушевидные (конические) 250 см^3, ГОСТ 10394-72

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая HP-1, 100% метилсиликон, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирмы Хьюлетт Паккард.

Колонки хроматографические, стеклянные или пластиковые, длина 150 - 250 мм, диаметр 15 мм.

Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.

Мельница лабораторная электрическая, ТУ 46-22-236-84, или аналогичная.

Стаканы стеклянные на 100 $см^3$, ГОСТ 6236-72.

Фильтры бумажные "Красная лента", ТУ 6-09-1678-86.

Центрифуга MPW-350e с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$.

Допускается применение хроматографических колонок и 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 газовый 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 газовом 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)^{0}с и относительной влажности не более 80%.

-выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. ПОДГОТОВКА К ОПРЕДЕЛЕНИЮ.

7.1. Подготовка колонки, заполненной Флоризилом для очистки экстракта.

На дно пластиковой хроматографической колонки (высота 15 см, диаметр 1,5 см) помещают пробочку из стекловаты и заполняют колонку Флоризилом на высоту 10 см. На слой Флоризила насыпают слой безводного сернокислого натрия толщиной 1,0 см. Колонку промывают 10 см^3 смеси гексана с этилацетатом в соотношении 10:1 и высушивают при комнатной температуре. Перед нанесением пробы колонку промывают 10 см^3 гексана. Колонка готова к работе.

7.2. Проверка хроматографического поведения Тау-флувалината на колонках с Флоризилом.

При отработке методики или поступлении новой партии Флоризила проводят изучение поведения Тау-флувалината на колонке. В концентратор вносят 1 см^3 стандартного раствора Тау-флувалината в ацетоне с концентрацией 1,0 мкг/ см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 25-30^{0}С, добавляют 5 см^3 гексана, растворяют содержимое концентратора и наносят на колонку. Затем наносят на колонку 20 см^3 гексана и 10 см^3 смеси гексан: этилацетат в соотношении 10:1, элюаты отбрасывают. Тау-флувалинат элюируют с колонки последовательно 3-мя порциями объёмом 5 см^3 каждая смеси гексана с этилацетатом в соотношении 10:1. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха при температуре не выше 25-30^{0}С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 см^3 ацетона и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

7.5. Приготовление рабочих растворов

7.5.1. Приготовление 70% водного раствора ацетона.

700 см^3 ацетона вносят в мерную колбу на 1 дм^3, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

7.5.2. Приготовление 0,1% раствора калия марганцовокислого.

1 г калия марганцовокислого вносят в мерную колбу на 1 $дм^3$, добавляют 600-700 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения кристаллов и доводят водой до метки.

7.5.2. Приготовление стандартных растворов.

100 мг Тау-флувалината (аналитического стандарта) вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном (стандартный раствор № 1, концентрация 1 мг/ $см^3$). Раствор хранится в холодильнике около 120 суток.

Методом последовательного разбавления исходного раствора №1 ацетоном готовят рабочие растворы Тау-флувалината с концентрацией: 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/ $см^3$, которые могут храниться в холодильнике не более 30 суток.

7.6. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа вводят 1 $мм^3$ рабочего раствора Тау-флувалината с концентрацией 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 мкг/ $см^3$. Проводят не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации.

По полученным данным строят градуировочный график зависимости площади хроматографического пика в Hz от концентрации Тау-флувалината в растворе в мкг/ $см^3$.

8. ОТБОР ПРОБ И ХРАНЕНИЕ.

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (№ 2051-79 от 21.08.79), а также в соответствии с ГОСТ 25896-83 «Виноград свежий столовый. ТУ», ГОСТ 25892-83Е «Сок виноградный. ТУ», ГОСТ 8988-77 «Масло рапсовое. ТУ», ГОСТ 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 7825-96 «Масло соевое. ТУ», РСТ РСФСР 384-83 «Солома зерновых, крупяных, з/бобовых культур и трав. ТУ», ГОСТ 27978-88 «Корма зеленые. ТУ», ГОСТ 13586.3-83 «Зерно. Правило приемки и методы отбора проб».

Пробы ягод винограда хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0-4 ^{0}С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре -18^{0}С.

Пробы сока винограда хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0- 4°С.

Пробы зерна и соломы пшеницы подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

9. ПРОВЕДЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ.

9.1. Зерно пшеницы.

Навеску измельченного зерна 20 г помещают в центрифужную банку объемом 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ 70% водного раствора ацетона и встряхивают смесь на встряхивателе в течение 30 минут. По окончании встряхивания пробу центрифугируют 5 минут при 4000 об/мин. Фильтруют экстракт в концентратор емкостью 250 $см^3$ через воронку с бумажным фильтром. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 $см^3$ 70% водного раствора ацетона, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Объединённые экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С до водного остатка. **(Выпаривание проводить осторожно, так как возможно вспенивание ацетона!).**

К водному остатку в концентраторе добавляют 10 $см^3$ 0,1% раствора калия марганцовокислого, ополаскивают стенки концентратора и переносят водную фазу в делительную воронку. В концентратор добавляют 5 $см^3$ ацетона, ополаскивают стенки концентратора и переносят в ту же делительную воронку. Ополаскивают стенки концентратора 70 $см^3$ дистиллированной воды и переносят воду в ту же делительную воронку.

Добавляют в ту же воронку 15 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия и 30 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоёв нижний водный слой сливают в тот же концентратор, а верхний гексановый собирают в чистый концентратор емкостью 250 $см^3$, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водную фракцию возвращают в делительную воронку. Экстракцию повторяют ещё дважды, используя для этого каждый раз 30 $см^3$ гексана. Гексановые экстракты объединяют в концентраторе и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С досуха.

9.1.1. Очистка экстракта на колонке с "Флоризилом".

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 5 $см^3$ гексана, обмывая стенки концентратора, и наносят на заранее подготовленную, как указано в разделе *7.1,* колонку с Флоризилом.. Колонку промывают 20 $см^3$ гексана, смыв отбрасывают. Наносят на колонку 10 мл смеси гексан:этилацетат - 10:1, смыв отбрасывают. Пропускают через колонку 10 $см^3$ смеси гексан:этилацетат - 10:1, элюат собирают в концентратор емкостью 100 $см^3$. Содержимое концентратора выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 25-30°С.

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 2 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ вводят в хроматограф.

9.2. Солома пшеницы.

Навеску измельченной соломы 5 г помещают в полипропиленовую банку объемом 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ 70% водного раствора ацетона и экстрагируют Тау-флувалинат 10 на ультразвуковой ванне, затем 45 минут встряхивают на встряхивателе. По окончании встряхивания пробу центрифугируют 5 минут при 4000 об./мин. Фильтруют экстракт в концентратор емкостью 250 $см^3$ через воронку с бумажным фильтром. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 50 $см^3$ 70% водного раствора ацетона, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Объединённые экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С до водного остатка. **(Выпаривание проводить осторожно, так как возможно вспенивание ацетона!).**

Далее проводят переэкстракцию Тау-флувалината в гексан, как указано в разделе 9.1., и очистку экстракта на колонке с Флоризилом (см. раздел *9.1.1.*).

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и вводят в хроматограф 1 $мм^3$ пробы.

9.3. Ягоды винограда.

Навеску измельченных ягод 10 г помещают в полипропиленовую банку объемом 250 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ ацетонитрила и встряхивают смесь на встряхивателе в течение 30 минут. По окончании встряхивания экстракт фильтруют в плоскодонную коническую колбу емкостью 250 $см^3$ с 5 г хлористого натрия через воронку с бумажным фильтром. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 $см^3$ ацетонитрила, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Объединенные экстракты перемешивают и переносят в делительную воронку. После разделения слоев нижний водный слой с остатками не растворившегося хлорида натрия отбрасывают, а верхний ацетонитрильный собирают в чистый концентратор емкостью 250 $см^3$, пропуская через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С досуха.

Сухой остаток в концентраторе разводят в 5 $см^3$ ацетонитрила, ополаскивают стенки концентратора, добавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды и переносят водную фазу в делительную воронку.

Добавляют в воронку 5 г хлористого натрия и 30 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоёв нижний водный слой сливают в тот же концентратор, а верхний гексановый собирают в чистый концентратор емкостью 250 $см^3$, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водную фракцию возвращают в делительную воронку. Экстракцию повторяют ещё дважды, используя для этого каждый раз 30

см^3 гексана. Гексановые экстракты объединяют в концентраторе и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С досуха.

Далее проводят очистку пробы на колонке с Флоризилом, как указано в разделе *9.1.1.*.

Сухой остаток разводят в 10 см^3 гексана и вводят в хроматограф 1 мм^3 пробы.

9.4. Сок винограда.

Навеску сока 10 г помещают в центрифужную банку объемом 250 см^3, добавляют 100 см^3 дистиллированной воды и 30 см^3 гексана, встряхивают смесь на встряхивателе в течение 60 минут. По окончании встряхивания пробу центрифугируют 5 минут при 4000 об./мин. Экстракт аккуратно переносят в делительную воронку. После разделения слоев нижний водный слой возвращают в центрифужную банку, а верхний гексановый собирают в чистый концентратор емкостью 250 см^3, пропуская через слой безводного сульфата. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 см^3 гексана, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Объединённые гексановые экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С досуха.

Далее проводят очистку пробы на колонке с Флоризилом, как указано в разделе *9.1.1.*.

Сухой остаток разводят в 10 см^3 гексана и вводят в хроматограф 1 мм^3 пробы.

9.5. Зеленая масса с искусственных злаковых пастбищ.

Навеску измельченной зеленой массы 10 г помещают в полипропиленовую банку объемом 250 см^3, добавляют 75 см^3 ацетонитрила и встряхивают смесь на встряхивателе в течение 60 минут. По окончании встряхивания экстракт фильтруют в концентратор емкостью 250 см^3 через воронку с бумажным фильтром. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 50 см^3 ацетонитрила, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Объединённые экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С досуха.

Сухой остаток в концентраторе разводят в 5 см^3 ацетонитрила, ополаскивают стенки концентратора, добавляют 100 см^3 дистиллированной воды и переносят водную фазу в делительную воронку.

Добавляют в воронку 5 г хлористого натрия и 30 см^3 гексана, интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоёв нижний водный слой сливают в тот же концентратор, а верхний гексановый собирают в чистый концентратор емкостью 250 см^3, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водную фракцию возвращают в делительную воронку. Экстракцию повторяют ещё дважды, используя для этого каждый раз 30 см^3 гексана. Гексановые экстракты объединяют в концентраторе и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С досуха.

Далее проводят очистку пробы на колонке с Флоризилом, как указано в разделе *9.1.1.*.

Сухой остаток разводят в 5 см^3 гексана и вводят в хроматограф 1 мм^3 пробы.

9.6. Семена рапса и сои.

Навеску измельченных семян рапса или сои 10 г помещают в полипропиленовую банку объемом 250 см^3, добавляют 50 см^3 ацетонитрила и встряхивают смесь на встряхивателе в течение 60 минут. По окончании встряхивания экстракт фильтруют в концентратор емкостью 250 см^3 через воронку с бумажным фильтром. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 см^3 ацетонитрила, встряхивая смесь каждый раз по 30 минут. Объединённые экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С до капель масла.

Остаток в концентраторе разводят в 5 см^3 ацетонитрила, ополаскивают стенки концентратора, добавляют 100 см^3 дистиллированной воды и переносят водную фазу в делительную воронку.

Добавляют в воронку 5 г хлористого натрия и 30 см^3 гексана, интенсивно встряхивают смесь в течение 1-2 мин. После разделения слоёв нижний водный слой сливают в тот же концентратор, а верхний гексановый собирают в чистый концентратор емкостью 250 см^3, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водную фракцию возвращают в делительную воронку. Экстракцию повторяют ещё дважды, используя для этого каждый раз 30 см^3 гексана. Гексановые экстракты объединяют в концентраторе и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С досуха.

Далее проводят очистку пробы на колонке с Флоризилом, как указано в разделе *9.1.1.*.

Сухой остаток разводят в 5 мл гексана и вводят в хроматограф 1 мм^3 пробы.

9.7. Масло рапса и сои.

Навеску масла 5 г растворяют в 50 см^3 гексана и переносят в делительную воронку. Добавляют в делительную воронку 50 мл ацетонитрила и встряхивают смесь в течение 2 минут. После полного разделения слоев нижний (ацетонитрильный) слой собирают в концентратор 250 см^3. Повторяют экстракцию еще дважды, используя по 30 см^3 ацетонитрила, встряхивая смесь каждый раз по 2 минут. Объединённые экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани не выше 35°С до капель масла.

Далее проводят очистку пробы на колонке с Флоризилом, как указано в разделе *9.1.1.*.

Сухой остаток разводят в 5 см^3 гексана и вводят в хроматограф 1 мм^3 пробы.

9.3. Условия хроматографирования.

Хроматограф газовый HP6890 Series GC System, ECD, с детектором электронного захвата, ЭЗД, в модификации с электронным управлением пневмонической системы (ЭУПС).

Температура детектора - 300°С, поток обдува анода (азот) – 6,0 см^3/мин, поток поддува - 59,0 см^3/мин.

Температура испарителя - 270°С, режим Split, тип газа гелий, давление 18,52 psi, деление потока 30:1, split поток 30,2 см^3/мин.

Программированный нагрев колонки с 180°С (выдержка 2 мин) по 10 град/мин до 270°С (выдержка 13 мин), режим постоянного потока, поток колонки 1,0 см^3/мин, средняя скорость 30 см/сек.

Абсолютное время удерживания Тау-флувалината 1 – 18,376 мин $\pm$ 2%;

Тау-флувалината 2 – 18,527 мин $\pm$ 2%.

Минимально детектируемое количество Тау-флувалината в анализируемом объеме – 0,1 нг

Линейность детектирования сохраняется в пределах - 1,0-0,1 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика.

Образцы, дающие пики больше, чем стандартный раствор с концентрацией Тау-флувалината 1,0 мкг/ см^3 соответственно разбавляют.

Количественное определение Тау-флувалината проводят по методу абсолютной калибровки посредством сравнения с хроматограммами стандартных растворов Тау-флувалината с концентрацией 0,1 – 1,0 мкг/ см^3.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА.

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа HP GC ChemStation Rev. A.06.03RUS.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Тау-флувалината (сумма изомеров) в пробах рассчитывают по следующей формуле:

$$X = \frac{Sпр \cdot A \cdot V}{Sст \cdot m}$$

где X - содержание Тау-флувалината в пробе, мг/кг;

Sст – сумма высот (площадей) двух характерных пиков стандарта, мВ;

Sпр - сумма высот (площадей) двух характерных пиков образца, мВ;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/ см^3;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m - масса анализируемого образца, 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):

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

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/кг;

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:

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

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

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * \bar{X}/100$,

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

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

*«содержание вещества в пробе менее 0,01мг/кг»**

** - 0.01 мг/кг - предел обнаружения.*

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 методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д = \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'},$$

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

$\Delta_л = \pm 0{,}84\,\Delta$,

где Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * \bar{X}/100$,

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д,$$

где $\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ 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 К рассчитывают по формуле:

$$К = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($К_к$) с нормативом контроля (К).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

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.

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)

$$\frac{2\cdot|X_1 - X_2|\cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le R \qquad (3)$$

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

Калинин В.А., профессор, канд. с-х. наук, Калинина Т.С., ст.н.сотр., канд. с-х. наук, Рыбакова О.И., науч. сотр., Третьякова О.А., инженер.

Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976- 43-26.