

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств пестицидов
в пищевых продуктах, сельскохозяйственном
сырье и объектах окружающей среды**

Сборник

МУК 4.1.2845—11, 4.1.2851—4.1.2858—11

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—164 с.

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 28.12.2010 № 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 31.03.2011.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Редактор Е. В. Николаева
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 15.07.11

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 10,25
Заказ 94

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

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

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

Определение остаточных количеств Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2845—11	4
Определение остаточных количеств Индоксакарба в луке-перо, луке-репке, плодах томата, томатном соке, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2851—11	21
Определение остаточных количеств Квинмерака в воде, почве, семенах и масле рапса методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2852—11 ...	43
Определение остаточных количеств Мезотриона в кукурузном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2853—11	65
Определение остаточных количеств Проквиназида в зерне и соломе зерновых культур методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2854—11	82
Определение остаточных количеств Пропиконазола в ягодах земляники и ягодных кустарников методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2855—11	97
Определение остаточных количеств Просульфокарба в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2856—11	111
Определение остаточных количеств Тербутилазина в зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2857—11	128
Определение остаточных количеств Топрамезона в воде, почве, зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2858—11	143

УТВЕРЖДАЮ

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

Г. Г. Онищенко

31 марта 2011 г.

Дата введения: с момента утверждения.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств Азоксистробина
(ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310)
в клубнях картофеля методом высокоэффективной
жидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2845—11**

Общие положения и область применения

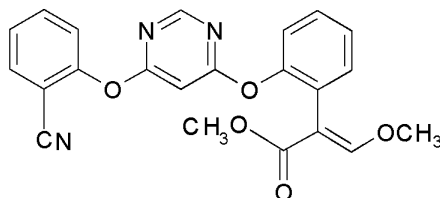
Свидетельство об аттестации методики от 28.09.2010. № 0045.22.09.10

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в клубнях картофеля в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Название действующего вещества ICIA 5504 по ИЮПАК: Метил(*E*)-2-{2-[6-(2-цианофенокси)пиримидин-4-илокси]фенил}-3-метоксиакрилат.

Структурная формула ICIA 5504:

Эмпи-
формула:
Моле-
са: 403,4.
Агре-
ние: кри-
порошок.



рическая фор-
C₂₂H₁₇N₃O₅.
кулярная мас-
гатное состоя-
сталический

Цвет, запах: бесцветный, без запаха.

Давление паров: $1,1 \times 10^{-7}$ мПа (при 20 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: $K_{ow} \log P = 2,5$ (при 20 °С).

Плотность: 1,34 г/см³ (при 20 °С).

Температура плавления: 116 °С.

Растворимость в воде мг/дм³ (25 °С): при рН 5,2—6,2; рН 7,0—6,7; рН 9,2—5,9.

Растворимость в органических растворителях (г/дм³, 20 °С): ацетон – 86; ацетонитрил – 340; гексан – 0,057; дихлорметан – 400; метанол – 20; толуол – 55; этилацетат – 130; н-октанол – 1,40.

Азоксистробин стабилен в водных растворах при рН 5—7 при комнатной температуре, в т. ч. при концентрациях менее 1 мкг/кг.

В почве период полураспада 8 недель (лабораторные условия), 2 недели (полевые условия). Основным путем разложения вещества на поверхности почвы является фотолит (период полураспада 11 дней) с образованием геометрического Z-изомера.

Краткая токсикологическая характеристика: Азоксистробин относится к веществам малоопасным по острой пероральной (ЛД₅₀ для крыс более 5 000 мг/кг) и дермальной токсичности (ЛД₅₀ для крыс более 2 000 мг/кг), но к опасным веществам по ингаляционной токсичности (ЛК₅₀ для крыс (4 ч) от 698 до 962 мг/м³). Не обладает генотоксическим, канцерогенным и нейротоксическим действием.

Область применения: Азоксистробин – фунгицид защитного, куративного и искореняющего действия с трансламинарными и системными свойствами. Подавляет прорастание спор и роста мицелия, обладает антиспорулянтной активностью. В дозах 100—375 г/га применяется против мучнистой росы, ржавчины, чешуйчатой пятнистости, пятнистости листьев зерновых, ржавчины и корневых гнилей на рисе, милдью виноградской лозы, ржавчины и корневых гнилей на томате и картофеле, настоящей и ложной мучнистой росы тыквенных, корневых гнилей арахиса, citrusовых, газонных трав. Препарат эффективен против штаммов патогенных грибов, устойчивых к ингибиторам С¹⁴, – деметилазы, фениламидам, дикарбоксимидам и бензимидазолам.

Применяется в России в качестве фунгицида на томатах, огурцах в дозе 0,4—0,5 дм³/га, винограде в дозе 0,6—0,8 дм³/га и зерновых в дозе 0,5—1,0 дм³/га. Проходит регистрационные испытания в России на посадках картофеля в качестве фунгицида с нормой расхода 3,0 дм³/га.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

– ДСД – 0,03 мг/кг массы человека;

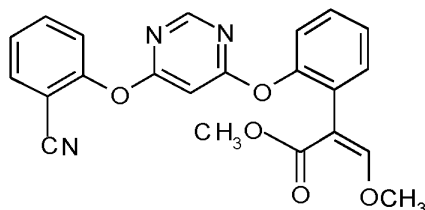
– ПДК в воде водоемов 0,01 мг/дм³;

– МДУ в продукции: томаты, огурцы и виноград – 0,2 мг/кг; клубни картофеля – 0,05 мг/кг.

R 230310 – Z-геометрический изомер Азоксистробина.

Название действующего вещества R 230310 по ИЮПАК: (Z)-2-{2-[6-(2-цианофенокси)пиримидин-4-илокси]фенил}-3-метоксиакрилат.

Структурная формула:



R 230310 представляет собой кристаллический порошок желтого цвета.

Физико-химические свойства близки к физико-химическим свойствам Азоксистробина.

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 табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

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

Таблица 1

Метрологические параметры для Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310)

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm \delta$, %, $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r , %	Предел повторяемости, r , %	Предел воспроизводимости, R , %
Азоксистробин (ICIA 5504)					
Клубни картофеля	0,01—0,1 вкл.	50	4,71	13,08	15,57
Геометрический изомер Азоксистробина (R 230310)					
Клубни картофеля	0,01—0,1 вкл.	50	3,73	10,36	12,33

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310)

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95, n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Полнота извлечения вещества, %	Стандартное отклонение, $S, \%$	Доверительный интервал среднего результата, $\pm, \%$
Азоксистробин (ICIA 5504)					
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,1	76,3	2,89	1,35
Геометрический изомер Азоксистробина (R 230310)					
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,1	74,3	2,02	0,95

2. Метод измерений

Метод основан на определении Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов клубней картофеля органическим растворителем, очистки экстракта на концентрирующих патронах Диапак С8, Диапак Амин и Диапак С.

Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические «ОНАУС», EP 114 с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г, класс точности по ГОСТ 24104—2001 – специальный (I)
 Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности $\pm 0,038$ г

«ACCULAB» V600, соответствуют классу точности по ГОСТ 24104—2001 – средний (III)
 Микрошприц для жидкостной хроматографии, объем 100 мм³, фирма «Hamilton», кат. № 80665
 Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 см³ ГОСТ 1770—74
 Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см³ ГОСТ 29227—91

pH-метр/милливольтметр pH-150 0...14 pH;
 ± 1 999 мВ, номер госрегистрации 10663
 Хроматограф жидкостной Waters 515 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу, номер госрегистрации 15311-02

Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 см³ ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Азоксистробин, CAS 131860-33-8, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,7 %, фирма «Dr. Ehreustorfer GmbH», аккредитованная ИСО-9001—2000
 R 230310, CAS 23783-98-4, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 96,0 %, фирма «Dr. Ehreustorfer GmbH», аккредитованная ИСО-9001—2000

Ацетон, осч ТУ 6-09-3513—86

Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм ТУ 6-09-2167—84

Вода бидистиллированная (бидистиллят), деионизированная или перегнанная над KMnO₄ ГОСТ 6709—72

Гелий очищенный, марки «А» ТУ-51-940—80

n-Гексан, хч ТУ 6-09-3818—89

Калий марганцово-кислый, ч.д.а. ГОСТ 20490—75

Кальций хлористый, ч ТУ 6-09-4711—81

Концентрирующие патроны Диапак Амин,

Диапак С и Диапак С8 (0,6 г), фирма «БиоХимМак СТ» ТУ 4215-002-05451931—94

Натрий серно-кислый, безводный, хч ГОСТ 4166—76

Натрий хлористый, хч ГОСТ 4233—77

Этилацетат, ч.д.а. ГОСТ 22300—76

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума (АО-14/23) для работы с концентрирующими патронами Диапак С8, Диапак Амин и Диапак С	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1»	
Банки с крышками для экстракции на 250 см ³ , полипропилен, кат. №3120-0250, фирма «NALGENE»	
Ванна ультразвуковая «UNITRA» UNIMA OLSZTYN UM-4	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 см ³	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней В-480, фирма «Buchi»	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 см ³	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 см ³ и 4 000 см ³ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма «Waters»	
Насос диафрагменный FT.19, фирма «KNF Neu Laborport»	
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry С 18, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters»	
Сито лабораторное с полотном из лагуни или нержавеющей стали с размером ячеек 1 мм	ГОСТ 3826—82 и ГОСТ 6613—86
Стаканы стеклянные, термостойкие, объемом 100—500 см ³	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см ³ и приемной конической колбой объемом 1 000 см ³	
Фильтры бумажные, «красная лента»	ТУ 6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма «Waters»	

Шприц инъекционный однократного применения объемом 10 см³

ГОСТ 24861—91
(ИСО 7886—84)

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 жидкостный 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 и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин, Диапак С и Диапак С8 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах Диапак Амин, Диапак С и Диапак С8, построение калибровочных кривых.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм³. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм³.

Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллят помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к нему марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм³ и кипятят в течение 6 ч.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 дм³ помещают 500 см³ ацетонитрила и 500 см³ очищенной воды. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см³/мин в течение 5 мин, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 мин.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) – 1,0 мг/см³.

Взвешивают 50 мг Азоксистробина (ICIA 5504) в мерной колбе объемом 50 см³. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и построения калибровочной кривой.

7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией геометрического изомера Азоксистробина (R 230310) – 1,0 мг/см³.

Взвешивают 50 мг R 230310 в мерной колбе объемом 50 см³. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Полученный стандартный раствор № 2 используют для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и построения калибровочной кривой.

7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 10,0 мкг/см³.

Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 100 см³. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см³ и помещают в ту же колбу объемом 100 см³, доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и построения калибровочной кривой.

7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 1,0 мкг/см³.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 4 используется для хроматографического исследования и для построения калибровочной кривой.

7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 0,5 мкг/см³.

Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 5 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 5 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 0,2 мкг/см³.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 50 см³ и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 6 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.2.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) по 0,1 мкг/см³.

Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 100 см³ и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании. Стандартный раствор № 7 используется для построения калибровочной кривой.

7.2.2.8. Стандартные растворы Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) с концентрацией 2,0, 1,0, 0,4, и 0,2 мкг/см³ для внесения в образцы.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 2,0, 1,0, 0,4 и 0,2 мкг/см³ и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 1,0, 0,5, 0,2 и 0,1 мкг/см³.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С8 для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на них

7.4.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак С8 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см³/мин. При работе на патронах Диапак С8 используют очищенную воду.

Патрон Диапак С8 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см³ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 см³ смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1 и 10 см³ воды. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак С8

Из стандартного раствора Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в ацетонитриле, содержащего по 1 мкг/см³ каждого соединения, отбирают 1 см³, помещают в круглодонную колбу объемом 100 см³ и выпаривают на ротационном вакуумном

испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см³ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см³ воды, перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 см³, выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см³ ацетонитрила и 20 мм³ пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор сначала обмывают 10 см³ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 5, затем тремя порциями по 5 см³ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1 и вносят на патрон. Элюат упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 см³ ацетонитрила и хроматографируют. Элюат после прохождения каждой порции упаривают досуха. Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 см³ ацетонитрила и 20 мм³ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Азоксистробин (ICIA 5504) и его геометрический изомер (R 230310), полностью смывания с патрона и необходимый объем элюента.

Изучение поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак С8 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов.

7.5. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин и Диапак С для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на них

7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов Диапак Амин и Диапак С для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см³/мин.

Соединяют последовательно патроны Диапак Амин (вверху) и Диапак С (внизу), устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см³ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующие патроны промывают 10 см³ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 9 : 1. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак Амин и Диапак С

Из стандартного раствора Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) в ацетонитриле, содержащего по 1 мкг/см³ каждого соединения, отбирают 1 см³, помещают в круглодонную колбу объемом 100 см³ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см³ этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см³ гексана, помещают на 10 с в ультразвуковую ванну, перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 см³ ацетонитрила и хроматографируют.

Исходный концентратор обмывают тремя порциями по 5 см³ смеси гексана с этилацетатом 3 : 1 и вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 см³, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см³ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Азоксистробин (ICIA 5504) и его геометрический изомер (R 230310), полностью смывания с колонки и необходимый объем элюента.

Изучение поведения Азоксистробина (ICIA 5504) и его геометрического изомера (R 230310) на концентрирующих патронах Диапак Амин и Диапак С проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов.

7.6. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 с предколонкой Symmetry C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1 см³/мин 3—4 ч.

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» от 21.08.1979 № 051—79, а также с ГОСТ 27853—88, ГОСТ 13341—77 «Свежие и свежемороженые овощи, картофель, бахчевые, фрукты, ягоды, грибы. Правила приемки и методы отбора проб».

Пробы клубней картофеля хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

9. Подготовка проб и выполнение измерений

9.1. Клубни картофеля

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3 , прибавляют 50 см^3 ацетонитрила и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну, а затем дополнительно на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют через фильтр «красная лента» в плоскодонную колбу объемом 250 см^3 с 5 г сухого хлористого натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 см^3 ацетонитрила и помещая на 5 мин в ультразвуковую ванну, а затем дополнительно на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Экстракты фильтруют и объединяют в конической колбе объемом 250 см^3 с хлористым натрием, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 10 мин. Затем содержимое колбы (без нерастворившейся соли) переносят в делительную воронку объемом 250 см^3 и выдерживают 5 мин. Выделившуюся нижнюю водную фазу отбрасывают.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 50 см^3 гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (гексан) отбрасывают, а ацетонитрильный слой возвращают в делительную воронку и промывают еще одной порцией гексана объемом 50 см^3 . Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

9.1.2. Очистка экстракта фильтрованием

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, прибавляют 5 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора, помещают на 10 с в ультразвуковую ванну, после чего фильтруют через фильтр «красная лента» в концентратор объемом 100 см^3 . Исходный концентратор обмывают еще двумя порциями ацетонитрила объемом по 5 см^3 каждая, объединяют все смывы в концентраторе объемом 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С8

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 см³ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора и помещая на 5 с в ультразвуковую ванну, прибавляют 9 см³ воды, тщательно перемешивают и вносят на предварительно подготовленный патрон, элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см³ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 5, вносят на патрон, элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см³ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1, вносят на патрон, элюат собирают в концентратор объемом 100 см³, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 30 °С и подвергают дальнейшей очистке на патронах Диапак С и Диапак Амин.

9.1.4. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С и Диапак Амин

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.3, растворяют в 1 см³ этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см³ гексана и вносят на предварительно подготовленные последовательно соединенные патроны Диапак Амин (вверху) и Диапак С (внизу). Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см³ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 1 : 3, элюат собирают в концентратор объемом 100 см³ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 см³ ацетонитрила и хроматографируют.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматограф жидкостной Waters 515 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу, номер госрегистрации 15311-02 или другой с аналогичными характеристиками.

Колонка стальная Symmetry Shield RP18, 250 мм × 4,6 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters».

Предколонка стальная Symmetry C18, 20 мм × 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма «Waters».

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода в соотношении 50 : 50.

Длина волны: 255 нм.

Время удерживания Азоксистеробина (ICIA 5504) – 12,98—13,65 мин, его геометрического изомера (R 230310) 10,27—10,69 мин.

Объем вводимой пробы: 20 мм³.

Чувствительность 0,003 AUFS (единиц абсорбции на шкалу).

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа Millennium 3.05.01.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Азоксиistroбина рассчитывают по формуле:

$$\bar{O} = \frac{S_{i\delta} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{н\delta} \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

X – содержание Азоксиistroбина или R 230310 в пробе, мг/кг;

S_{cm} – высота (площадь) пика стандарта, мм;

S_{np} – высота (площадь) пика образца, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m – масса анализируемого образца, г (см³);

P – содержание Азоксиistroбина или R 230310 в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2 \cdot |\bar{O}_1 - \bar{O}_2| \cdot 100}{(\bar{O}_1 + \bar{O}_2)} \leq r, \text{ где}$$

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2,8 \times \sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta \cdot \bar{O} / 100,$$

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

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

*«содержание вещества в пробе менее 0,01 мг/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_δ должна удовлетворять условию:

$$C_\delta = \Delta_{e,\delta} + \Delta_{e,\delta'}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{e,\delta}$ ($\pm \Delta_{e,\delta'}$) – 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:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$$\Delta = \delta \cdot \bar{O} / 100, \text{ где}$$

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

Результат контроля процедуры K_x рассчитывают по формуле:

$$K_x = \bar{O}' - \bar{O} - C_\delta, \text{ где}$$

\bar{O}' , \bar{O} , C_δ – 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:

$$\hat{E} = \sqrt{\Delta_{e,\bar{\sigma}}^2 + \Delta_{e,\sigma}^2}$$

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):

$$\frac{2 \cdot |\bar{O}_1 - \bar{O}_2| \cdot 100}{(\bar{O}_1 + \bar{O}_2)} \leq R, \text{ где} \quad (3)$$

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

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

14. Разработчики

Калинин В. А., профессор, канд. с-х. наук, Довгилевич Е. В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Довгилевич А. В., ст. н. сотр., канд. хим. наук, Устименко Н. В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Щербинкина Е. Н., инженер.

Российский государственный аграрный университет МСХА им. К. А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (495) 976-37-68, факс: (495) 976-43-26.

**Полнота извлечения Топрамезона из воды, почвы,
зеленой массы, зерна и масла кукурузы
(5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)**

Среда	Внесено Топрамезона, мг/кг	Обнаружено Топрамезона, мг/кг	Полнота извлечения, %
Вода	0,005	0,0041 ± 0,0001	81,2
	0,010	0,0087 ± 0,0001	87,2
	0,020	0,0174 ± 0,0002	87,2
	0,050	0,0403 ± 0,0007	80,6
Почва	0,01	0,0083 ± 0,0001	83,4
	0,02	0,0152 ± 0,0002	76,0
	0,05	0,0411 ± 0,0004	82,1
	0,10	0,0846 ± 0,0004	84,6
Зерно кукурузы	0,01	0,0075 ± 0,0001	75,2
	0,02	0,0166 ± 0,001	83,1
	0,05	0,0416 ± 0,0003	83,3
	0,10	0,0736 ± 0,0017	73,6
Масло кукурузы	0,01	0,0086 ± 0,0002	86,4
	0,02	0,0182 ± 0,0004	91,1
	0,05	0,0414 ± 0,0004	82,8
	0,10	0,0920 ± 0,0014	92,0
Зеленая масса кукурузы	0,05	0,0399±0,0007	79,8
	0,10	0,0788±0,0017	78,8
	0,20	0,1498±0,0030	74,9
	0,50	0,3744±0,0048	74,9