

**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 4.1.2758—4.1.2767—10**

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.—163 с.

1. Методические указания разработаны ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора».

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 14.10.2010 № 2).

3. Введены впервые.

ББК 51.21

© Роспотребнадзор, 2011

© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

Измерение концентраций клодинафоп-пропаргила в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2758—10	4
Измерение концентраций пропизохлора в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2759—10	18
Измерение концентраций мепикват хлорида в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2760—10	30
Определение остаточных количеств имидаклоприда в цитрусовых, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2761—10	46
Измерение концентраций метрафенона в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2762—10	62
Измерение концентраций мезосульфурон-метила, иодосульфурон-метилнатрия, дифлофеникана и мефенпир-диэтила в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов хроматографическими методами: МУК 4.1.2763—10	75
Определение метрибузина в биологических средах экспериментальных животных (почках, печени, головном мозге, семенниках, моче, кале) методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2764—10 ...	95
Измерение концентраций диметоата в атмосферном воздухе населенных мест методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2765—10	111
Измерение концентраций тиенкарбазон-метила, ципросульфамида и изоксафлотола в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2766—10	121
Измерение концентраций флуоксастробина, клотианидина, протиокназола и тебуконазола в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов хроматографическими методами: МУК 4.1.2767—10	139

УТВЕРЖДАЮ

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

Г. Г. Онищенко

17 ноября 2010 г.

Дата введения: 17 декабря 2010 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

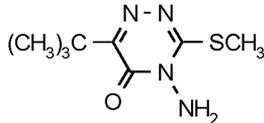
**Определение метрибузина в биологических средах
экспериментальных животных (почках, печени,
головном мозге, семенниках, моче, кале)
методом капиллярной газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2764—10**

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций метрибузина в биологических средах экспериментальных животных в диапазонах 0,004—0,04 мг/кг (почки, печень, семенники, кал), 0,01 – 0,1 мг/кг (головной мозг) и 0,001—0,01 мг/дм³ (моча).

Метрибузин

4-амино-6-*трет*-бутил-4,5-дигидро-3-метилгио-1,2,4-триазин-5-он
(IUPAC)

C₈H₁₄N₄OS

Мол. масса 214,3

Белое кристаллическое вещество со слабым характерным запахом. Температура плавления 126,2 °С. Плотность 1,28 (20 °С). Давление паров: 0,058 мПа (при 20 °С). Коэффициент распределения н-октанол/вода (при pH 5,5 и 20 °): K_{ow}logP = 1,6. Растворимость в органических растворителях при 20 °С (г/дм³): диметилформамид – 1 780, циклогексанон

– 1 000, хлороформ – 850, ацетон – 820, метанол – 450, дихлорметан – 340, бензол – 220, н-бутанол – 150, этанол – 190, толуол – 87, ксилол – 90, изо-пропанол – 77, гексан – 1,0. Растворимость в воде при 20 °С: 1,05 г/дм³.

Метрибузин при 20 °С стабилен в разбавленных кислотах и щелочах; DT₅₀ (37 °С) – 6,7 часа (рН 1, 2); DT₅₀ (70 °С) – 569 часов (рН 4); 47 дней (рН 7), 191 час (рН 9).

Подвержен быстрой деградации в воде на свету (DT₅₀ – менее 1 дня). На поверхности почвы при естественном облучении DT₅₀ – 14—15 дней.

Область применения

Метрибузин – избирательный системный гербицид класса 1,2,4-триазиона, ингибирует фотосинтез. В растения проникает через корни и листья.

Препараты на основе метрибузина могут представлять собой стандартные суспензии (с размером частиц более 2 мкм), а также наноформы, образующие водные системы с размером частиц менее 0,1 мкм.

1. Метрологические характеристики

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (дм ³)	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm \delta, \% P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, $\sigma_r, \%$	Предел повторяемости, $r, \%$	Предел воспроизводимости, $R, \%$
Почки	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	4,5	13	15
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	4,9	14	17
Печень	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	5,0	14	17
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	5,2	15	19
Головной мозг	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,5	13	15
Семянники	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	4,9	14	17
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	4,8	13	15
Моча	от 0,001 до 0,01 вкл.	100	4,9	14	17
Кал	от 0,004 до 0,008 вкл.	100	3,9	11	13
	свыше 0,008 до 0,04 вкл.	50	4,0	11	13

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95, n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг (дм ³)	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, $S, \%$	доверительный интервал среднего результата, $\pm, \%$
Почки	0,004	0,004—0,04	79,8	5,5	2,9
Печень	0,004	0,004—0,04	81,3	5,0	2,7
Головной мозг	0,01	0,01—0,1	81,7	4,2	2,2
Семенники	0,004	0,004—0,04	81,8	4,5	2,4
Моча	0,001	0,001—0,01	81,4	4,9	2,6
Кал	0,004	0,004—0,04	83,1	3,2	1,7

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным (ТИД) и электрозахватным (ЭЗД) детекторами после экстракции из анализируемых проб биологических сред ацетонитрилом, последовательной очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, окислением марганцовокислым калием в щелочной среде, затем на концентрирующих патронах Sep Pak Silica и C18 Sep Pak.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный электрозахватным и термоионным детектором с пределом детектирования соответственно по линдану $3,5 \cdot 10^{-14}$ г/с, и азоту в азобензоле $3,0 \cdot 10^{-14}$ гР/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой Весы аналитические ВЛА-200

Номер Госреестра 14516-08
ГОСТ 24104—2001

Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности $\pm 0,038$ г	ГОСТ 24104—2001
Колбы мерные 2-100-2, 2-500-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ 7328—2001
Микрошприц SGE-Cromatec, вместимостью 10 мм ³	Номер Госреестра 39206-08
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 см ³	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 250 и 500 см ³	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Метрибузин, государственный стандартный образец с содержанием действующего вещества 99,7 %, относительная погрешность аттестованного значения $\pm 0,3$ %	ГСО 7713—99
Азот газообразный нулевой, марка А (99,999 %), в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода деионизованная	ГОСТ 6709—72
n-Гексан, для ВЭЖХ	ТУ 6-09-06-657—84
Калий гидроокись (гидроксид калия), осч	ГОСТ 24363—80
Калий марганцовокислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид кальция), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Натрий серноокислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

Допускается использование реактивов иных производителей с более высокой квалификацией, не требующих выполнения п. 7.1 (очистка растворителей).

3.3. *Вспомогательные устройства, материалы*

Аллонж прямой с отводом для вакуума (для работы с концентрирующими патронами)	ГОСТ 25336—82
Баня ультразвуковая (фирмы Донау (Швейцария))	
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронки делительные вместимостью 250 и 1 000 см ³	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные типа В-36-80 ХС и В-56-80 ХС	ГОСТ 25336—82
Генератор водорода, исполнение 6.140 (СКБ «Хроматэк», Россия)	
Груша резиновая	ТУ 9398-05-0576-9082—2003
Колбы конические (плоскодонные) вместимостью 100—150, 200—250 и 500 см ³	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100, 150 и 250 см ³	ГОСТ 9737—93
Компрессор (СКБ «Хроматэк», Россия)	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Стаканы химические, вместимостью 100 и 500 см ³	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Патроны для твердофазной экстракции С18 Sep Pak, Classik (Waters, США), масса сорбента 360 мг	
Патроны для твердофазной экстракции Sep Pak Silica, (Waters, США), объем сорбента 2 см ³	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок 30	
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Vuchi, Швейцария	
Сосуды для гомогенизации тканей стеклянные с плунжером, вместимостью 15 см ³ типа ВВ1-8540802 (фирма «Sartorius AG», Германия)	
Стеклянные или полипропиленовые емкости вместимостью 100 см ³ с герметичной крышкой (для хранения биопроб)	

Установка для перегонки растворителей с дефлегматором

ГОСТ 9737—93 (ИСО 641-75)

Холодильник с морозильной камерой бытовой

Хроматографическая колонка DB-5ms, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм

Хроматографическая колонка капиллярная DB-1701, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм

Шприцы медицинские с разъемом Льюэра вместимостью 5 и 10 см³

Допускается применение 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—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—79, а также требования, изложенные в технической документации на газовом хроматографе.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 мПа (150 кгс/см²), необходимо соблюдать «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576-03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений допускают специалиста, имеющего квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на газовом хроматографе, освоившего данную методику и подтвердившего экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, градуировочных растворов, растворов внесения, установление градуировочной характеристики, подготовка концентрирующих патронов Sep Pak Silica и C18 Sep Pak.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм³ ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм³ ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.1.2. Гексан

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты, до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.3. Хлористый метилен и этилацетат

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %

Навеску $(5 \pm 0,1)$ г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в деионизованной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

Хлористый метилен (этилацетат) промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.2. Приготовление раствора калия гидроксида с молярной концентрацией 2 моль/дм³ (2 М раствор)

В мерную колбу вместимостью 500 см³, помещают (56 ± 0,1) г гидроксида калия, растворяют в 250—300 см³ деионизованной воды, доводят водой до метки, перемешивают.

7.3. Приготовление раствора марганцовокислого калия с массовой долей 0,1 %

В мерную колбу вместимостью 500 см³ помещают (0,5 ± 0,01) г марганцовокислого калия, доводят водой до метки, перемешивают. Раствор хранят в темном месте.

7.4. Приготовление гексана, насыщенного ацетонитрилом

В коническую колбу вместимостью 500 см³ с притертой пробкой помещают 250 см³ гексана, вносят (10 ± 1) см³ ацетонитрила, перемешивают в течение 5 мин. Хранят в темном месте.

7.5. Приготовление смесей гексан–этилацетат для очистки экстракта на патроне Sep Pak Silica

7.5.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 7 : 3). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 70 см³ гексана и 30 см³ этилацетата, перемешивают.

7.5.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 9 : 1). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 90 см³ гексана и 10 см³ этилацетата, перемешивают.

7.5.3. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 80 см³ гексана и 20 см³ этилацетата, перемешивают.

7.6. Приготовление смеси ацетонитрил–вода (объемное соотношение 3 : 7) для очистки экстракта на патроне C18 Sep Pak

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 30 см³ ацетонитрила и 70 см³ деионизованной воды, перемешивают.

7.7. Подготовка концентрирующего патрона Sep Pak Silica

Патрон устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума.

Концентрирующий патрон промывают с помощью разрежения, создаваемого водоструйным насосом, последовательно 3 см³ метанола, 5 см³ смеси гексан–этилацетат (7 : 3, по объему), 5 см³ гексана со скоростью прохождения растворителя через патрон 1—2 капли в секунду. Патрон готовят непосредственно перед использованием. Нельзя допускать высыхания верхнего слоя сорбента.

7.8. Подготовка концентрирующего патрона C18 Sep Pak

Концентрирующий патрон промывают с помощью медицинского шприца или разряжения, создаваемого водоструйным насосом, 5 см³ метанола со скоростью прохождения растворителя через патрон 1—2 капли в секунду, затем 10 см³ деионизованной воды.

Патрон готовят непосредственно перед использованием.

7.9. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.9.1. *Исходный раствор метрибузина для градуировки (массовая концентрация 100 мкг/см³)*. В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,01 г метрибузина, растворяют в 50—70 см³ этилацетата, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 2-х месяцев.

Градуировочные растворы № 2—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора.

7.9.2. *Растворы № 1 метрибузина для градуировки (массовая концентрация 10 мкг/см³)*.

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ исходного раствора метрибузина с концентрацией 100 мкг/см³ (п. 7.9.1), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике не более месяца.

7.9.3. *Рабочие растворы № 2—5 метрибузина для градуировки и внесения (массовая концентрация 0,1—1,0 мкг/см³)*.

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1,0, 2,0, 5,0 и 10 см³ раствора № 1 метрибузина с концентрацией 10 мкг/см³ (п. 7.9.2), доводят до метки этилацетатом, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией метрибузина 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мкг/см³, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике не более месяца.

Эти растворы используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найден».

7.10. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площадей пиков (мВ · с) от концентрации метрибузина в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки № 2—5 (п. 7.9.3).

В испаритель хроматографа вводят 1 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3.1.

или 9.3.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площади пиков (в мВ · с) метрибузина.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

Градуировочную характеристику проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значение площадей отличается более, чем на 11 % от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

8. Отбор и хранение проб

Пробы органов, тканей, кала и мочи отбирают в лабораторных условиях, герметично упаковывают в полипропиленовые или стеклянные емкости с притертыми крышками, замораживают и хранят в морозильной камере при температуре ниже $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Непосредственно перед анализом образцы органов, тканей, а также кала тщательно измельчают с использованием гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

9.1.1. Печень, почки, семенники, головной мозг, кал

Образец печени, почек, семенников и кала массой 5 г, головного мозга массой 2 г гомогенизируют в сосуде для гомогенизации с порцией ацетонитрила объемом $5\text{--}7\text{ см}^3$. Гомогенизированный образец с порциями ацетонитрила по $10\text{--}15\text{ см}^3$ переносят в коническую колбу вместимостью $100\text{--}150\text{ см}^3$ (общий объем ацетонитрила с учетом растворителя, взятого для гомогенизации и обмыва сосуда для гомогенизации – 70 см^3), дополнительно тщательно перемешивают и помещают на 1 ч в холодильник ($4\text{--}6\text{ }^{\circ}\text{C}$). Затем надосадочную жидкость фильтруют через бумажный фильтр, помещенный в конусную воронку, в делительную воронку вместимостью 250 см^3 . Осадок на фильтре промывают 30 см^3 ацетонитрила, предварительно ополоснув растворителем колбу, в которой находилась проба, объединяя фильтрат с основной порцией в делительной воронке. Затем в делительную воронку вносят 20 см^3 гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, перенося в коническую колбу на $100\text{--}150\text{ см}^3$, верхнюю гексановую промывку отбрасывают. Ацетонитрильный раствор возвращают в делительную воронку и операцию промывки повторяют новой порцией гексана, насыщенного ацетонитрилом, объемом 20 см^3 . Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный раствор переносят в круглодон-

ную колбу для упаривания вместимостью 250 см³, вносят в нее 10 см³ деионизованной воды, упаривают на ротационном вакуумном растворителе при температуре 35—40 °С до объема около 20 см³, внимательно следя за процессом, не допуская переброса жидкости при вспенивании, и очищают по п. 9.2.

9.1.2. Моча

Пробу мочи объемом 20 см³ помещают в коническую колбу вместимостью 100—150 см³, вносят 50 см³ ацетонитрила, перемешивают и помещают на 1 час в холодильник (4—6 °С). Затем раствор осторожно переносят в делительную воронку вместимостью 250 см³, после полного расслаивания нижний водный слой отделяют и отбрасывают. В делительную воронку вносят 10 см³ гексана, насыщенного ацетонитрилом, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, перенося в коническую колбу на 100—150 см³, верхнюю гексановую промывку отбрасывают. Ацетонитрильный раствор возвращают в делительную воронку и операцию промывки повторяют новой порцией гексана, насыщенного ацетонитрилом, объемом 10 см³. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный раствор переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 250 см³, вносят в нее 10 см³ деионизованной воды, упаривают на ротационном вакуумном растворителе при температуре 35—40 °С до объема около 20 см³ и очищают по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта.

9.2.1. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и окислением

Остаток в колбе, полученный по п. 9.1.1 или 9.1.2, с помощью 80 см³ деионизованной воды переносят в делительную воронку вместимостью 250 см³, колбу дополнительно обмывают 20 см³ воды, которую также переносят в воронку. Вносят в воронку 10 см³ насыщенного раствора натрия хлористого, перемешивают и помещают на 1 час в холодильник или на 15 мин в морозильную камеру. Затем в воронку вносят 2 см³ 2 М раствора калия гидроксида и 50 см³ дихлорметана, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой переносят в новую делительную воронку вместимостью 250 см³. Экстракцию метрибузина повторяют еще дважды порциями дихлорметана объемом 20 см³. Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы дихлорметана в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества.

В делительную воронку, содержащую объединенные дихлорметановые экстракты, вносят 10 см^3 2 М раствора калия гидроксида и 5 см^3 0,1 %-го раствора марганцовокислого калия (при анализе печени объем раствора марганцовокислого калия увеличивают до 6 см^3), интенсивно встряхивают в течение 3-х мин. Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы дихлорметана в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества. После полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой переносят в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 150 см^3 , фильтруя через слой (около 1 см) безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусную воронку диаметром 56 мм. Сульфат натрия на фильтре промывают дополнительной порцией дихлорметана объемом 10 см^3 . Верхний водный слой отбрасывают.

Объединенные экстракт и промывку, пропущенные через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном растворителе при температуре бани не выше $35 \text{ }^\circ\text{C}$. Дальнейшую очистку на концентрирующем патроне Sep Pak Silica проводят по п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Sep Pak Silica

Остаток в колбе, полученный после упаривания по п. 9.2.1 растворяют в 5 см^3 гексана, помещая на 30—40 с на ультразвуковую баню, и вносят с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, на концентрирующий патрон Sep Pak Silica (подготовленный по п. 7.7) со скоростью пропускания раствора 1—2 капли в секунду. Колбу ополаскивают 5 см^3 гексана, который также наносят на патрон. После нанесения пробы патрон промывают 3 см^3 смеси гексан—этилацетат (9 : 1, по объему), элюат отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 10 см^3 смеси гексан—этилацетат (8 : 2, по объему), собирая элюат в круглодонную колбу, упаривают при температуре не выше $35 \text{ }^\circ\text{C}$ досуха. Остаток растворяют в 1 см^3 ацетонитрила, вносят 9 см^3 деионизованной воды, помещают на ультразвуковую баню на 45—60 с. Дальнейшую очистку на концентрирующем патроне C18 Sep Pak проводят по п. 9.2.3.

9.2.3. Очистка экстракта на концентрирующем патроне C18 Sep Pak

Раствор в колбе, полученный по п. 9.2.2, вносят с помощью медицинского шприца или разряжения, создаваемого водоструйным насосом, на концентрирующий патрон C18 Sep Pak, подготовленный по п. 7.8, со скоростью пропускания раствора 2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 . Патрон дополнительно промывают (скорость 2 капли в секунду) 10 см^3 смеси ацетонитрил—вода в соотношении 3 : 7 (по объему), также собирая элюат в круглодонную

колбу. Объединенный элюат упаривают досуха при температуре не выше 40 °С, для полного удаления следов влаги вносят в колбу порцию ацетонитрила (5—7 см³) и вновь упаривают.

Сухой остаток растворяют в 2 см³ этилацетата и анализируют содержание метрибузина по пп. 9.3.1 или 9.3.2.

9.3. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

9.3.1. *Хроматограф газовый, снабженный термоионным детектором.*

Колонка капиллярная DB-5ms, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм

Температура детектора: 350 °С

испарителя: 300 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 100 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 220 °С, выдержка 5 мин, нагрев колонки со скоростью 25 градусов в минуту до температуры 270 °С (выдержка 2 мин).

Скорость воздуха 200 см³/мин; водорода 10,5 см³/мин; газа 3 (азот) 30 см³/мин

Скорость газа 1 (азот): 35,544 см/с, давление 120 кПа, поток 1,393 см³/мин, деление потока 1 : 5

Хроматографируемый объем: 1 мм³

Ориентировочное время удерживания метрибузина: ~12,5 мин

9.3.2. *Газовый хроматограф, снабженный электрозахватным детектором.*

Колонка капиллярная DB-1701, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,5 мкм.

Температура детектора: 300 °С

испарителя: 280 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 80 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 230 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 270 °С (выдержка 1 мин).

Скорость газа 1 (азот): 35,971 см³/с, давление 70 кПа, поток 2,015 см³/мин.

Деление потока 1 : 2,9.

Хроматографируемый объем: 1 мм³

Ориентировочное время выхода метрибузина: ~16,9 мин.

Линейный диапазон детектирования: 0,01—0,1 нг

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков вещества (в мВ · с), находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию метрибузина в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор с массовой концентрацией 0,1 мкг/см³, разбавляют этилацетатом, не более чем в 50 раз. При расчете содержания метрибузина учитывают разбавление.

10. Обработка результатов анализа

Содержание метрибузина в пробе (X , мг/кг, мг/дм³) рассчитывают по формуле:

$$\check{O} = \frac{\check{N} \cdot V}{m}, \text{ где}$$

C – концентрация метрибузина, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m – масса (объем) анализируемого образца, г (см³).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2 \cdot |\check{O}_1 - \check{O}_2| \cdot 100}{(\check{O}_1 + \check{O}_2)} \leq r, \text{ где} \quad (1)$$

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг (дм³);

r – значение предела повторяемости (табл. 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:

$(\check{O} \pm \Delta)$ мг/кг (дм³) при вероятности $P = 0,95$, где

\check{O} – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг (дм³);

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм³);

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

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

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание метрибузина в пробе печени, почек, семенников, кала менее 0,004 мг/кг; головного мозга – менее 0,01 мг/кг; мочи – менее 0,001 мг/дм³»**

** – 0,004 мг/кг – предел обнаружения в печени, почках, семенниках, кале; 0,01 мг/кг – головном мозге; 0,001 мг/дм³ – моче.*

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_d должна удовлетворять условию:

$$C_d \geq \Delta_{e,\bar{O}} + \Delta_{e,\bar{O}'} \text{ где}$$

$\pm \Delta_{e,\bar{O}}$ ($\pm \Delta_{e,\bar{O}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой), мг/кг (дм³), при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм³);

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

$\delta \nabla$ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном определяемых концентраций, табл. 1), %.

Контрольный параметр процедуры (K_k) рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{O}' - \bar{O} - C_d, \text{ где}$$

$\bar{\sigma}'$, $\bar{\sigma}$, C_d – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг (дм³);

Норматив контроля K рассчитывают по формуле

$$K = \sqrt{\Delta_{e,\sigma'}^2 + \Delta_{e,\sigma}^2}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры (K_c) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_c| \leq K, \quad (2)$$

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 (дм³);

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

14. Разработчики

Ракитский В. Н., Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н., Рогачева С. К. (ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора).