

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
мефеноксама в зерне и соломе зерновых
колосовых культур, семенах
и масле рапса методом капиллярной
газожидкостной хроматографии**

Методические указания
МУК 4.1.2335—08

Издание официальное

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств мефеноксама в зерне и соломе зерновых колосовых культур, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

**Методические указания
МУК 4.1.2335-08**

ББК 51.21
О-60

О-60 **Определение остаточных количеств мефеноксама в зерне и соломе зерновых колосовых культур, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания.** – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 18 с.

1. Разработаны: ГНУ Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии (Л.В. Дубовая, А.М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно – эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения (протокол от 6 декабря 2007 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 15 февраля 2008 г.

4. Введены в действие с 10 апреля 2008 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16

Печ. л. 1,25.

Тираж 200 экз.

**Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20.**

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

© Роспотребнадзор, 2009

© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

УТВЕРЖДАЮ

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

Г.Г. Онищенко

15 февраля 2008 г.

Дата введения: 10 апреля 2008 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы

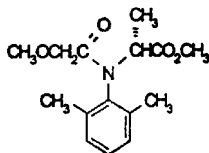
**Определение остаточных количеств мефеноксама в зерне
и соломе зерновых колосовых культур, семенах и масле рапса
методом капиллярной газожидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2335-08**

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации мефеноксама в зерне колосовых культур, семенах и масле рапса в диапазоне 0,05-0,5 мг/кг, в соломе зерновых культур в диапазоне 0,1-1 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Мефеноксам

Название вещества по ИЮПАК: Метил N-(метоксиацетил)-N-(2,6-ксилил)-D-аланинат



$$C_{15}H_{21}NO_4$$

Мол. масса: 279,3

(R) - энантиомер металаксилы. Вязкая жидкость от бледно-желтого до светло-коричневого цвета. Температура плавления -38,7°C. Температура кипения: разлагается при 270°C. Давление паров при 25°C:

МУК 4.1.2335-08

3,3 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: $K_{ow} \log P = 1,71$. Растворимость (г/дм³) при 25°C: вода – 26, н-гексан – 59, смешивается с ацетоном, этилацетатом, метанолом, дихлорметаном, толуолом и н-октанолом.

Вещество устойчиво к фотолизу и гидролизу в кислых и нейтральных условиях ($DT_{50} > 200$ дней). В щелочных условиях (рН 9) $DT_{50} = 116$ дней.

В биологически активных почвах в аэробных условиях мефеноксам разлагается со средним значением $DT_{50} = 21$ день.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 667 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – > 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – > 2290 мг/м³ воздуха. LC_{50} для рыб – > 100 мг/дм³ (96 час.). Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел и дождевых червей.

Рекомендуемый гигиенический норматив для мефеноксама в зерне хлебных злаков, семенах и масле рапса – 0,1 мг/кг.

Область применения

Мефеноксам – системный фунгицид защитного и искореняющего действия из класса фениламидов. Ингибирует образование белков в грибах, подавляя синтез рибосомальной РНК. Высокоэффективен против возбудителей фитофтороза картофеля и томатов, мильдью винограда, ложной мучнистой росы и корневая оидиумная болезнь овощных культур, сахарной свеклы и подсолнечника, увядания растений кукурузы.

Применяется в России в качестве протравителя семян сахарной свеклы и подсолнечника с нормой расхода 0,17-1,0 кг д.в./т. Помимо этого, мефеноксам в составе смесевых препаратов с фунгицидами защитного действия используется для двух-трехкратной обработки посевов овощных культур, картофеля и винограда в течение вегетационного периода с нормой расхода 0,1-0,2 кг д.в./га.

1. Метрологические характеристики метода

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

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций мг/дм ³ , мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, % $P=0,95$	Стандартное отклонение повторяемости σ_r , %	Предел повторяемости, г, %	Предел воспроизводимости, R, %
Зерно	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	2,7	7,6	11,7
	более 0,1 до 0,5	25	2,4	6,7	10,4
Солома	0,1	50	2,1	5,9	9,1
	более 0,1 до 1,0	25	1,8	5,0	7,8
Семена рапса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	2,5	7,0	10,8
	более 0,1 до 0,5	25	2,3	6,5	10,0
Масло рапса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,2	9,0	13,9
	более 0,1 до 0,5	25	2,3	6,5	10,0

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, $\pm\%$
Зерно	0,05	0,05-0,5	84,7	3,9	$\pm 3,7$
Солома	0,1	0,1-1,0	83,8	3,1	$\pm 2,9$
Семена рапса	0,05	0,05-0,5	84,0	3,1	$\pm 2,9$
Масло рапса	0,05	0,05-0,5	85,0	4,0	$\pm 3,7$

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД). Контроль мефеноксама в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из зерна и соломы ацетоном, а из семян и масла рапса ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с оксидом алюминия и концентрирующем патроне Диапак-диол.

Идентификация проводится по времени удерживания пика вещества, количественное определение - методом абсолютной калибровки.

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

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ТИД (СКБ «Хроматэк», Россия)	Номер Госреестра № 14516-95
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,036 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 см ³	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с шлифованной пробкой вместимостью 5 см ³	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 см ³	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Мефеноксам, аналитический стандарт фирмы Сингента (Швейцария) с содержанием д.в. 99,1%

Ацетон, чда	ГОСТ 2603-79
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 7602
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328
Натрий серноокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрия хлорид, хч	ГОСТ 4233
Хлористый метилен (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300
Эфир диэтиловый медицинский	ГОСТ 6265

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), осч	ГОСТ 9293
Аппарат для встряхивания проб АБУ-1	ТУ 64-1-1081-73
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Вата медицинская	ТУ 9393-001-00302238
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 см ³	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена	ГОСТ 5614
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см ³	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25, 50, 100 см ³	ГОСТ 9737
Колонка кварцевая капиллярная ZB-1 (типа SE-30), длиной 20 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США) или аналогичная	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8-10 мм	ГОСТ 9737

МУК 4.1.2335-08

Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236-84
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Оксид алюминия для колоночной хроматографии, кислый (Сигма, США) I степени активности	
Патроны концентрирующие Диапак-диол (0,6 г) (ЗАО "БиоХимМак СТ", Москва)	ТУ 4215-001-05451931-94
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-11-917
Стаканы химические вместимостью 50 и 500 см ³	ГОСТ 25336
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей	
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман ЗММ	ТУ 6-09-2678-77
Центрифуга Т-23 (Janetzki, Германия) или аналогичная	
Шприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1 - 10 мм ³ (Hamilton, США)	
Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 10 см ³	ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими 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 $(20\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 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, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с оксидом алюминия и концентрирующих патронов Диапак-диол.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка n-гексана

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

7.1.2. Очистка этилацетата

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

7.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 л ацетона 10 г KMnO_4 и 2 г K_2CO_3).

7.1.4. Очистка диэтилового эфира

Растворитель предварительно встряхивают со свежеприготовленным раствором железного купороса, а затем последовательно промывают 0,5%-ным раствором перманганата калия, 5%-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

7.2. Подготовка колонки с оксидом алюминия и концентрирующего патрона Диапак-диол для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 10 г оксида алюминия V степени активности в 15 см³ гексана (оксид алюминия V степени активности по Брокману получают добавлением 15% воды к оксиду алюминия I степени активности). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 см³ гексана со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак-диол промывают последовательно с помощью медицинского шприца 12 см³ этилацетата и 8 см³ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 5 см³/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения мефеноксама на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,2 см³ градуировочного раствора № 1 мефеноксама с концентрацией 10,0 мкг/см³ в этилацетате (п. 7.5.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с оксидом алюминия, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 20 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку с силикагелем промывают 30 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (1:1, по объему). Фракционно (по 5 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см³ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание мефеноксама по п.9.5. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полную вымывания вещества из колонки и необходимый объем элюирующего агента.

7.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку ZB-1 (типа SE-30) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280⁰С и скорости газа-носителя 2 см³/мин в течение 8-10 часов.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходный раствор мефеноксама для градуировки (концентрация 100 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,010 г мефеноксама, растворяют в 40 см³ этилацетата, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше – 18⁰С в течение 3-х месяцев.

7.5.2. Раствор мефеноксама №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см³).

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10,0 см³ исходного раствора мефеноксама с концентрацией 100 мкг/см³ (п.7.5.1.), добавляют этилацетатом до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

Для приготовления проб зерна, соломы, семян и масла с внесением при оценке полноты извлечения мефеноксама из исследуемых образцов используют ацетоновый раствор мефеноксама с концентрацией 5 мкг/см³.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор мефеноксама хранят в морозильной камере при температуре не выше –18⁰С в течение месяца.

7.5.3. Рабочие растворы №№ 2-5 мефеноксама для градуировки (концентрация 0,25-2,5 мкг/см³).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают 2,5, 5,0, 12,5 и 25,0 см³ градуировочного раствора № 1 мефеноксама с концентрацией 10,0 мкг/см³ (п.7.5.2), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией мефеноксама 0,25, 0,5, 1,25 и 2,5 мкг/см³, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика ($mB \cdot c$) от концентрации мефеноксама в растворе ($мкг/см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п.7.5.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом Р 50436-92 «Зерновые. Отбор проб зерна», ГОСТом 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и ГОСТом 8988-77 «Масло рапсовое. ТУ».

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

Пробы масла рапса хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре $0-4^{\circ}C$. В некоторых случаях масло получают из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция и очистка

9.1.1. Зерно, солома. Образец размолотого зерна (10 г) или соломы (5 г) помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3 , приливают 20 см^3 дистиллированной воды и спустя 5 минут 60 см^3 ацетона. Суспензию перемешивают в течение 45 минут на аппарате для встряхивания и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3 . Осадок на фильтре промывают 40 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость объединяют и переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по пп. 9.2., 9.3 и 9.4.

9.1.2. Семена. Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см³, добавляют 70 см³ ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания на 1 час. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см³. Осадок на фильтре промывают 30 см³ ацетонитрила. Объединенный ацетонитрильный экстракт переносят в круглодонную колбу, куда добавляют 30 см³ деионизованной воды. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2., 9.3. и 9.4.

9.1.3. Масло. Образец масла массой 5 г переносят в плоскодонную колбу вместимостью 250 см³, добавляют 50 см³ ацетонитрила и колбу помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в химический стакан, а к оставшемуся в колбе маслу приливают 30 см³ ацетонитрила и операцию экстракции повторяют. Объединенную ацетонитрильную фазу переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют 10 мин. при 10000g. Декантируют ацетонитрильный слой в круглодонную колбу через слой ваты, помещенной в конусную воронку. После декантации вату промывают 10 см³ ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. Объединенную ацетонитрильную фазу упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40⁰С и остаток дополнительно очищают по пп. 9.3. и 9.4.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракты, полученные по пп. 9.1.1. и 9.1.2. и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка при температуре не выше 40⁰С. К водному остатку прибавляют 15 см³ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см³. В воронку вносят 30 см³ хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой сливают в делительную воронку вместимостью 250 см³. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 20 см³ хлористого метилена. Объединенную дихлорметановую фракцию переносят в делительную воронку, приливают 50 см³ 0,1 N раствора NaOH и смесь интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу и упаривают досуха на ротаци-

онном вакуумном испарителе при температуре 30⁰С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.3. и 9.4.

9.3. Очистка экстракта на колонке с оксидом алюминия

Сухой остаток экстрактов зерна, соломы и семян в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2., растворяют в 3 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 2 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 15 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Мефеноксам элюируют с колонки 25 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (1:1, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см³. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30⁰С.

Остаток экстракта масла в круглодонной колбе, полученный по п. 9.1.3., растворяют в 2 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 1 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 10 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Мефеноксам элюируют с колонки 12 см³ смеси гексан-диэтиловый эфир (8:2, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 50 см³. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30⁰С.

9.4. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак-диол

Остаток экстракта зерна, семян, соломы или масла в круглодонной колбе, полученный по п.9.3., растворяют при помощи ультразвуковой ванны в 2 см³ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) и переносят в подготовленный концентрирующий патрон Диапак-диол (п. 7.2.). Патрон промывают 0,5 см³ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), элюат отбрасывают. Мефеноксам элюируют 3,5 см³ смеси гексан-этилацетат (7:3, по объему) в круглодонную колбу вместимостью 25 см³. Раствор упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 40⁰С. Остаток экстрактов зерна, семян и соломы в колбе раство-

ряют в 2 см³, а масла – в 1 см³ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание мефеноксама по п.9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с термоионным детектором на азотсодержащие вещества с пределом детектирования не выше $2,82 \times 10^{-14}$ г/см³.

Колонка капиллярная кварцевая ZB-1(типа SE-30), длина 18 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США)

Температура термостата испарителя – 260⁰С, детектора – 300⁰С, термостата колонки (программа: от 140⁰С (1 мин.) со скоростью 20⁰/мин до 190⁰С (0 мин.); со скоростью 5⁰/мин до 230⁰С (0 мин.); со скоростью 20⁰/мин до 260⁰С (5 мин.)

Расход газов: газа-носителя (азот) – 3,0 см³/мин; водорода и воздуха к ТИД – 12,3 и 200 см³/мин., соответственно

Деление потока: 1:0,9

Время удерживания мефеноксама: 5 мин.12 сек – 5 мин. 15 сек

Объем вводимой пробы: 1 мм³.

Линейный диапазон детектирования: 0,25 – 2,5 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят 3 раза и вычисляют среднюю площадь хроматографического пика мефеноксама.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/см³, разбавляют этилацетатом.

10. Обработка результатов анализа

Содержание мефеноксама рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание мефеноксама в пробе, мг/кг;

H₁ – площадь пика образца, мВ*с;

H₀ – площадь пика стандарта, мВ*с;

A - концентрация стандартного раствора мефеноксама, мкг/см³;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

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):

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

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

r - значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\sigma$.

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 (дм³) при вероятности $P = 0.95$,

где \bar{X} - среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг (дм³);

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

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

*менее 0,05 мг/кг для зерна, семян и масла**

*менее 0,1 мг/кг для соломы**.*

*- 0,05 мг/кг - предел обнаружения для зерна колосовых культур, семян и масла рапса.

** - 0,1 мг/кг – предел обнаружения для соломы.

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 внутрिलाбораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки C_0 должна удовлетворять условию:

$$C_0 = \Delta_{x,\bar{x}} + \Delta_{x,\bar{x}'},$$

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

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

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

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

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

Результат контроля процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{x}' - \bar{x} - C_0,$$

где \bar{x}' , \bar{x} , C_0 – 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

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

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

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

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

где X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг (дм³);

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

14. Разработчики

Дубовая Л.В., науч. сотр.; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук.
ГНУ ВНИИ фитопатологии, 143050, Московская обл., п/о Большие
Вяземы, тел. 592-92-20.