Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фенгексамида в воде и почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3505—17

Издание официальное

Москва • 2018

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фенгексамида в воде и почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3505—17

ББК 51.21
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств фенгексамида в воде и почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—16 с.

ISBN 978–5–7508–1665–1

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Н. Е. Федорова, Л. Г. Бондарева).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 24 ноября 2017 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 29 декабря 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 21.12.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 100 экз. Заказ 77

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
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел.: 8 (495) 633-86-59

© Роспотребнадзор, 2018

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
29 декабря 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фенгексамида в воде и почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3505—17

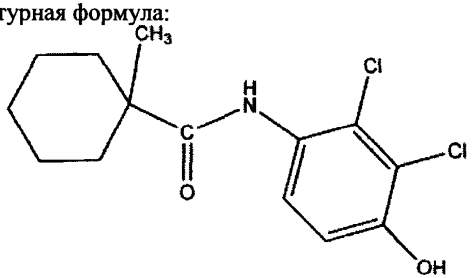
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воде и почве массовой концентрации фенгексамида в диапазоне 0,0005—0,0125 мг/дм^3, 0,05—1,25 мг/кг соответственно.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Фенгексамид

N-(4-Гидрокси-2,3-дихлорфенил)-1-метилциклогексанкарбоксамид (IUPAC).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{14}H_{17}Cl_2NO_2$.

Молекулярная масса: 302,2.

Белый порошок. Давление пара (20 °С) – 4×10^{-7} Па (3×10^{-9} мм рт. ст.). Растворимость в воде (20 °С, pH 5—7) 20 мг/дм^3. Растворимость в орга-

нических растворителях (при 20 °С, г/дм^3): ацетон – 160; дихлорметан – 31; гексан – 0,1; толуол – 0,0057.

Область применения. Фенгексамид – фунгицид профилактического действия (химический класс – гидроксианилиды) для борьбы с серой гнилью, белой гнилью и плодовой гнилью на виноградной лозе, ягодниках, косточковых, цитрусовых, овощных и декоративных культурах.

1. Погрешность измерений

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/дм^3, мкг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$ %, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, %
Вода	0,0005—0,0125	50	1,6	2,2	5	6
Почва	0,05—1,25	50	1,9	3,8	5	11

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

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/дм^3, мкг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,0005	0,0005—0,0125	99,0	2,3	1,6
Почва	0,05	0,05—1,25	93,8	2,0	2,0

2. Метод измерений

Определение остаточных количеств фенгексамида выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы – 1 нг. Средняя полнота извлечения: 99,0 % – вода; 93,8 % – почва.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с быстросканирующим ультрафиолетовым детектором, снабженный дегазатором, термостатом колонки	
Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст.	ТУ 2504-1799—75
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 420 г, предел допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Термометр лабораторный шкальный, пределы измерения от –35 °С до +55 °С	ТУ 25-1102.055—83
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91

Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Фенгексамид, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 98,7 %

Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ-6-09-14.2167—84
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора), хч	ТУ 6-09-4173—85
н-Гексан (гексан), для хроматографии	ТУ 6-09-06-657—84
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76
Натрий сернокислый (сульфат) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый (хлорид натрия), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
Силикагель для колоночной хроматографии (размер частиц 63—200 меш), нейтральный, активный	
Кислота соляная (хлороводородная), хч	ГОСТ 3118—77
Кислота ортофосфорная, хч, 85 %	ГОСТ 6552—80
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Кальций хлористый, насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующих дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Бумажные фильтры низкой плотности	ТУ 2642-001-68085491—11
Аппарат для встряхивания проб, орбита до 10 мм	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Воронки химические конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Воронка делительная вместимостью 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Колба коническая плоскодонная вместимостью 250—300 $см^3$	
Мельница лабораторная	ГОСТ 23932—90
Воронка Бюхнера	ТУ 9471-002-10471723—03
Колбы круглодонные (для упаривания) на шлифе вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Насос водоструйный	ГОСТ 25336—82
Набор сит	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	

Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком вместимостью 150 и 2 000 см^3	ГОСТ 25336—82
Колонка стеклянная длиной 25 см и внутренним диаметром 10—12 см	
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник обратный водяной	
Хроматографическая колонка стальная длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С-18 или С-8, зернением 5,0 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—250 мм^3	

Примечание. Допускается использование вспомогательных устройств и материалов 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 по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

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 ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—15.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы на жидкостном хроматографе, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

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 жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей, подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ, подготовка колонки с силикагелем, приготовление градуировочных растворов и растворов внесения, установление градуировочной характеристики, отбор и хранение проб.

7.1. Очистка растворителей

7.1.1. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм^3 ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм^3 ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.1.2. Этилацетат

7.1.2.1. Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %. Навеску (25 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3, растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают. Раствор хранят в стеклянной посуде в течение 3 месяцев.

7.1.2.2. Очистка растворителя. Этилацетат промывают последовательно 5%-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30. Растворитель хранят в стеклянной посуде в течение 1 месяца.

7.1.3. н-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.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

7.2.1. Приготовление раствора ортофосфорной кислоты с массовой долей 0,2 % (0,2%-й раствор). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 250—300 см^3 бидистиллированной воды, 1 см^3 ортофосфорной кислоты, перемешивают, доводят до метки водой и еще раз тщательно перемешивают.

7.2.2. Приготовление подвижной фазы. В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 600 см^3 ацетонитрила и 400 см^3 0,2%-го раствора ортофосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

Подвижную фазу хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку подвижной фазой (п. 7.2) при скорости подачи растворителя 0,8 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление смеси растворителей для экстракции и очистки экстракта

7.4.1. Приготовление раствора соляной кислоты, 1 моль/дм^3. В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 250—300 см^3 бидистиллированной воды и 45,5 см^3 соляной кислоты, перемешивают доводят до метки водой и еще раз тщательно перемешивают.

7.4.2. Смесь гексан–этилацетат (8 : 2 по объему). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 400 см^3 гексана, 100 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.4.3. Смесь гексан–этилацетат (7 : 3 по объему). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 350 см^3 гексана, 150 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.4.4. Смесь гексан–этилацетат (1 : 1 по объему). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 250 см^3 гексана, 250 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.4.5. Смесь ацетонитрил–бидистиллированная вода (7 : 3 по объему). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 350 см^3 ацетонитрила, 150 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают.

Растворы хранят в темном месте (в емкости из темного стекла) не более 14 дней.

7.5. Подготовка колонки с силикагелем

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в

колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля в 30 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, затем 8 : 2 порциями по 30 см^3. Скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду. Колонка готова к работе.

7.6. Проверка хроматографического поведения фенгексамида на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 фенгексамида с концентрацией 25 мкг/см^3 (п. 7.7.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2 по объему), помещают на ультразвуковую баню на 40—60 с и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.5. Колбу обмывают дважды этой же смесью растворителей порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 25 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, элюат отбрасывают.

Затем колонку промывают 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ, анализируют содержание фенгексамида по п. 9.3.

Фракции, содержащие фенгексамид, объединяют и вновь анализируют.

Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

Примечание. Проверку хроматографического поведения фенгексамида следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании партии сорбентов и растворителей.

7.7. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.7.1. Исходный раствор фенгексамида для градуировки (концентрация 250 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,0250 ± 0,0001) г фенгексамида, растворяют в 50—60 см^3 ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение трех месяцев.

7.7.2. Рабочий раствор № 1 фенгексамида для градуировки и внесения (концентрация 25,0 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10,0 см^3 исходного градуировочного раствора с кон-

центрацией 250,0 мкг/см^3 (п. 7.7.1), доводят до метки ацетонитрилом 25,0 мкг/см^3.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение трех месяцев.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено» и контроля качества результатов измерений методом «добавок».

7.7.3. Рабочие растворы № 2—6 фенгексамида для градуировки (концентрация 0,1—2,5 мкг/см^3). В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают 0,4; 1,0; 2,0; 4,0; 10,0 см^3 рабочего раствора № 1 с концентрацией 25,0 мкг/см^3 (п. 7.7.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—6 с концентрациями фенгексамида 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; и 2,5 мкг/см^3.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С не более месяца.

7.8. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика от концентрации фенгексамида в растворе, устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования, указанных ниже. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков фенгексамида, на основании которых строят градуировочную зависимость.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб осуществлен в соответствии с ГОСТ 31861—12 «Вода. Общие требования к отбору проб»; ГОСТ 17.4.3.01—83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб»; «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051-79 от 21.08.79).

Пробы воды отбирают и хранят в бутылях из полиэтилена (полипропилена) при температуре (4 ± 2) °С 1 неделю. Пробы почвы подсушивают и хранят при комнатной температуре не более 2 недель. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

Образец воды объемом 400 $см^3$ отмеряют с помощью мерного цилиндра. Помещают в делительную воронку вместимостью 500 $см^3$, добавляют 4 $см^3$ 1 М раствора соляной кислоты (приготовленной по п. 7.4.1) и 20 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия. Перемешивают. В делительную воронку вносят 50 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают в течение двух минут. После полного разделения фаз верхний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия толщиной 1,5 см, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке в колбу для упаривания.

Процедуру экстракции водной фазы повторяют с 30 $см^3$ гескана. Объединенный органический экстракт в круглодонной колбе упаривают при температуре не выше 35 °С на роторном вакуумном испарителе досуха. Остаток, полученный в круглодонной колбе, растворяют в 1 $см^3$ этилацетата, вносят 4 $см^3$ гексана, помещают в ультразвуковую ванну на 30 с. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.5. Колбу промывают дважды смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) порциями по 3 $см^3$, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку смесью гексан–этилацетат последовательно в объемных соотношениях 8 : 2 – порция 25 $см^3$, затем 7 : 3 – порция 50 $см^3$. Элюат отбрасывают. Фенгексамид элюируют с колонки 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном отношении 1 : 1 со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Остаток растворяют в 2 $см^3$ подвижной фазы и анализируют содержание фенгексамида в воде в условиях хроматографирования по п. 9.3.

9.2. Почва

Образец воздушно-сухой почвы массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (п. 7.4.5), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают на 15 мин в ультразвуковую ванну.

Пробам дают отстояться. Затем смесь фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной бумажный фильтр низкой плотности. Почвенный остаток повторно экстрагируют 50 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода (п. 7.4.5) на ультразвуковой ванне в течение 15 мин, раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Переносят аликвоту фильтрата объемом 10 $см^3$ (соответствующую 4 г пробы почвы) в колбу на 50 $см^3$ и доводят водой до метки, перемешивают.

Полученный раствор помещают в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 2 $см^3$ 1 М раствора соляной кислоты и 5 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия. Перемешивают. В эту же делительную воронку вносят 50 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают в течение двух минут. После полного разделения фаз верхний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия толщиной 1,5 см, помещенный на бумажном фильтре в конусной воронке, в колбу для отгонки. Процедуру экстракции водной фазы повторяют с использованием 30 $см^3$ гексана. Объединенный органический экстракт в круглодонной колбе упаривают при температуре не выше 35 °С на роторном вакуумном испарителе досуха. Остаток, полученный в круглодонной колбе, растворяют в 1 $см^3$ этилацетата, вносят 4 $см^3$ гексана, помещают в ультразвуковую ванну на 30 с. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.5. Колбу промывают дважды смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) порциями по 3 $см^3$, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку смесью гексан–этилацетат последовательно в объемных соотношениях 8 : 2 – порция 25 $см^3$, затем 7 : 3 – порция 50 $см^3$. Элюат отбрасывают. Фенгесамид элюируют с колонки 30 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном отношении 1 : 1 со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Остаток растворяют в 2 $см^3$ подвижной фазы и анализируют содержание фенгексамида в почве в условиях хроматографирования по п. 9.3.

9.3. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

Жидкостный хроматограф с быстросканирующим ультрафиолетовым детектором, снабженный дегазатором и термостатом колонки.

Хроматографическая колонка стальная длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом с привитыми алкильными группами (С-18 или С-8) для удерживания гидрофильных соединений, зернением 5 мкм.

Рабочие длины волн: 289 и 246 нм.

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,2%-я ортофосфорная кислота (60 : 40, по объему).

Скорость потока элюента: 0,8 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 2—50 нг.

10. Обработка результатов анализа

Содержание фенгексамида в пробах воды и почвы (X, мг/$дм^3$, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V \cdot K}{m}, \text{ где}$$

A – концентрация фенгексамида, мг/дм^3, мг/кг;

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

m – масса (объем) анализируемого образца, г, см^3;

K – коэффициент, учитывающий объем экстракта, взятого для анализа, $K = 1$ (вода), $K = 5$ (почва).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/дм^3, мг/кг;

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг, мг/дм^3 при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг, мг/дм^3;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3, мг/кг:

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

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 фенгексамида в пробе воды – менее 0,0005 мг/дм^3; в пробе почвы – менее 0,05 мг/кг**».

* 0,0005 мг/дм^3; 0,05 мг/кг – пределы обнаружения фенгексамида в воде и почве соответственно.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание фенгексамида в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,1 до 2,5 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq B \text{, где}$$

X – концентрация фенгексамида в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора фенгексамида, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (равен 10 % при $P = 0{,}95$).

Если величина расхождения (А) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов фенгексамида, предусмотренных методикой измерения. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.8.

Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом «добавок».

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'} \text{, где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компо-

нента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг, мг/дм^3, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг, мг/дм^3:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки соответственно, мг/кг, мг/дм^3.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг, мг/дм^3.

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

gost.e-ecolog.ru