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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств бензовиндифлупира в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3497—17

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21+51.23
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств бензовиндифлупира в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—18 с.

ISBN 978–5–7508–1643–9

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

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+51.23

ISBN 978–5–7508–1643–9

© 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 бензовиндифлупира в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3497—17

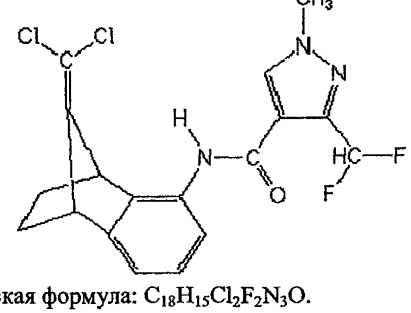
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур массовой концентрации бензовиндифлупира в диапазонах 0,0005—0,01 мг/дм^3, 0,05—1,0 мг/кг, 0,01—0,2 и 0,02—0,4 мг/кг соответственно.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Бензовиндифлупир

N-[(1*RS*, 4*SR*)-9-(дихлорметилен)-1,2,3,4-тетрагидро-1,4-металнафтален-5-ил]-3-(дифторметил)-1-метилпиразол-4-карбоксамид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{18}H_{15}Cl_2F_2N_3O$.

Молекулярная масса: 398,2.

Белый порошок без запаха. Температура плавления – (148,4 ± 0,5) °С. Плотность – 1,466. Давление паров (25 °С) – менее $3,2 \times 10^{-9}$ Па (3×10^{-9} мм рт. ст.). Растворимость в воде (25 °С, pH 6,7—7,5) – 0,98 мг/дм^3. Растворимость в органических растворителях (при 25 °С, г/дм^3): ацетон – 350, дихлорметан – 450, метанол – 76, гексан – 270, октанол – 19, этилацетат – 190, толуол – 48. Коэффициент распределения в системе н-октанол–вода K_{ow} logP = 4,3 ± 0,3 (25 °С, pH 6,59). Гидролитически стабилен в стерильном буфере в темноте при pH 4,5 и 9 до 5 дней (50 °С).

Область применения. Бензовиндифлупир – фунгицид широкого спектра действия, принадлежащий к химическому классу пиразолкарбоксамидов.

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

Значения характеристики погрешности, нормативов оперативного контроля точности, повторяемости, воспроизводимости

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности, $P = 0,95$), ± δ, %	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, %, ($P = 0,95$)
Вода	0,0005—0,01	50	3,0	4,2	8	12
Почва	0,05—1,0	50	3,7	7,4	10	21
Зерно	0,01—0,2	50	3,8	5,3	11	15
Солома	0,02—0,4	50	3,4	4,8	10	14

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, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,0005	0,0005—0,01	94,1	3,00	1,6
Почва	0,05	0,05—1,0	86,4	3,18	1,9
Зерно	0,01	0,01—0,2	86,5	3,77	2,2
Солома	0,02	0,02—0,4	82,5	3,15	3,0

2. Метод измерений

Методика основана на определении веществ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Уровень бензовиндифлупира в пробах почвы, зерна и соломы зерновых колосовых культур определяют после экстракции из анализируемых проб смесью ацетонитрил-вода, центрифугирования, очистки экстракта на колонке, заполненной силикагелем. Уровень бензовиндифлупира в пробах воды определяют после экстракции из анализируемых проб гексаном в присутствии насыщенного раствора хлорида натрия с последующей дополнительной очисткой на колонке с силикагелем.

Нижний предел измерения каждого изомера бензовиндифлупира в анализируемом объеме пробы – 1 нг.

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
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Термометр лабораторный шкальный, пределы измерения –35—55 °С	ТУ 25-1102.055—83
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 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

Бензовиндифлупир, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,4 %	
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
Спирт этиловый (этанол) ректификованный	ГОСТ Р 51652—2000 или ГОСТ 18300—87
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

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 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Мельница лабораторная	
Воронка Бюхнера	ТУ 9471-002-10471723—03
Колбы конические круглодонные (для упаривания) на шлифе вместимостью 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
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник обратный водяной	
Хроматографическая колонка стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным 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 жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—15. 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—90.

5. Требования к оператору

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

При подготовке к выполнению измерений проводятся следующие работы: очистка растворителей, подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ, приготовление смеси растворителей для экстракции и очистки экстракта, подготовка колонки с силикагелем, приготовление градуировочных растворов и растворов внесения, установление градуировочной характеристики.

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

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 550 см^3 ацетонитрила и 450 см^3 бидистиллированной или деионизованной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют. Подвижную фазу хранят не более 30 дней.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2) при скорости подачи растворителя 1,0 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление смеси растворителей для экстракции и очистки экстракта

7.4.1. *Смесь ацетонитрил–вода (8 : 2 по объему).* В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 800 см^3 ацетонитрила, 200 см^3 деионизованной воды, 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.

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

7.5. Приготовление раствора соляной кислоты с концентрацией 1 моль/дм^3

В колбу на 500 см^3 помещают 100—150 см^3 деионизованной воды. После этого, мерным цилиндром приливают 45,5 см^3 соляной кислоты (конц.). После охлаждения колбы до комнатной температуры доводят объем до метки деионизованной водой.

7.6. 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.

7.7. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.7.1. *Исходный раствор бензовиндифлупира для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3).* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,0100 г бензовиндифлупира, добавляют 50—70 см^3 ацетонитрила, перемешивают, доводят ацетонитрилом до метки, вновь перемешивают. Раствор хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 9 месяцев.

Растворы № 1—6 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходных растворов для градуировки.

7.7.2. *Раствор № 1 бензовиндифлупира для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/см^3).* В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора *бензовиндифлупира* (п. 7.7.1) с концентрацией 100 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом до метки, перемешивают. Раствор № 1 хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С в течение 6 месяцев.

7.7.3. *Рабочие растворы № 2—6 бензовиндифлупира для градуировки (концентрация 0,05—1,0 мкг/см^3).* В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 и 10,0 см^3 раствора № 1 с концентрацией 10 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 бензовиндифлупира 0,05, 0,1, 0,25, 0,5, 1,0 мкг/см^3.

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

Растворы с концентрацией 1,0; 0,5; 0,25 и 0,1 мкг/см^3 используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения веществ методом «внесено-найдено», а также при контроле качества результатов измерений методом «добавок».

7.8. Установление градуировочной характеристики

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (мЕа · с) от концентрации бензовиндифлупира в растворе (мкг/см^3), 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 по п. 9.4. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб осуществляется 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», ГОСТ 13586.3—15 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ Р ИСО 24333—11 «Зерно и продукты его переработки. Отбор проб», ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма для животных. 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, зерна и соломы 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 200 $см^3$ отмеряют с помощью мерного цилиндра. Помещают в делительную воронку вместимостью 500 $см^3$, добавляют 4 $см^3$ 1 М раствора соляной кислоты 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 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. 7.6. 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. Бензовиндифлупир 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 бензовиндифлупира в условиях хроматографирования по п. 9.4.

9.2. Почва

Образец воздушно-сухой почвы массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (подготовленной по п. 7.4.1), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают на 15 мин в ультразвуковую ванну.

Пробе 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 (подготовленной по п. 7.4.1) в ультразвуковой ванне в течение 15 мин, раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Переносят аликвоту фильтрата объе-

мом 10 см^3 (соответствующую 2 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. 7.6. 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. Бензовиндифлупир 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 бензовиндифлупира в почве в условиях хроматографирования по п. 9.4.

9.3. Зерно и солома

Образец измельченного зерна массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 см^3, затем добавляют 100 см^3 смеси ацетонитрил-вода (подготовленной по п. 7.4.1), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают в ультразвуковую ванну на 15 мин.

Образец измельченной соломы массой 5 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 см^3, вносят 25 см^3 деионизованной воды, оставляют на 30 мин, затем добавляют 75 см^3 смеси ацетонитрил-вода (подготовленной по п. 7.4.1), интенсивно встряхивают в течение 1 мин, затем помещают в ультразвуковую ванну на 15 мин.

Пробам дают отстояться. Затем смесь фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, че-

рез двойной бумажный фильтр низкой плотности. Растительные остатки повторно экстрагируют 50 см^3 смеси ацетонитрил-вода (подготовленной по п. 7.4.1) в ультразвуковой ванне в течение 15 мин, раствор фильтруют на воронке Бюхнера.

Объединенный экстракт упаривают на роторном испарителе до водного остатка. После этого переносят водный остаток в мерную колбу на 50 см^3 и доводят объем до метки водой. Перемешивают.

Полученный раствор помещают в делительную воронку вместимостью 500 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 2 мин. 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. 7.6. 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. Бензовиндифлупир 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 бензовиндифлупира в условиях хроматографирования по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах.

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

Хроматографическая колонка стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с

привитыми алкильными группами (С-18 или С-8) для удерживания гидрофильных соединений, зернением 5 мкм.

Рабочая длина волны: 254 нм.

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–бидистиллированная вода (55 : 45, по объему).

Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 1—20 нг.

10. Обработка результатов анализа

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

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

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

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

C – коэффициент, учитывающий объема экстракта, взятого для анализа, $C = 1$ (вода, солома, зерно), $C = 5$ (почва).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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/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), %.

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

«*содержание бензовиндифлупира в пробе воды – менее 0,0005 мг/дм^3*; в пробе почвы – менее 0,05 мг/кг*; в пробе зерна – менее 0,01 мг/кг* и соломы – менее 0,02 мг/кг**».

* – 0,0005 мг/дм^3; 0,05 мг/кг; 0,01 мг/кг и 0,02 мг/кг – пределы обнаружения бензовиндифлупира в воде, почве, зерне и соломе 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 бензовиндифлупира в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,05 до 1,0 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \le B, \text{ где}$$

A – величина расхождения, %;

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

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

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

Если величина расхождения (A) 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 бензовиндифлупира, предусмотренных МИ. 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 компонента 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):

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

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

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

Определение остаточных количеств бензовиндифлупира в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3497—17

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

Подписано в печать 9.10.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 150 экз. Заказ 48

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./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru