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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тебуфенпирада в воде, почве, яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3073—13

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств тебуфенпирада в воде, почве, яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—24 с.

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

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 30 мая 2013 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 19 июля 2013 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

© **Роспотребнадзор, 2013**
© **Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013**

Содержание

1. Метрологические характеристики 5
2. Метод измерений 6
3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы 7
4. Требования безопасности 11
5. Требования к квалификации оператора. 11
6. Условия измерений. 11
7. Подготовка к выполнению измерений 12
8. Отбор и хранение проб. 16
9. Выполнение определения 17
10. Обработка результатов анализа 20
11. Проверка приемлемости результатовараллельных определений 20
12. Оформление результатов 21
13. Контроль качества результатов измерений 21

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
19 июля 2013 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тебуфенпирада в воде, почве, яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3073—13

Свидетельство о метрологической аттестации
от 24.08.2012 № 0131.24.08.12

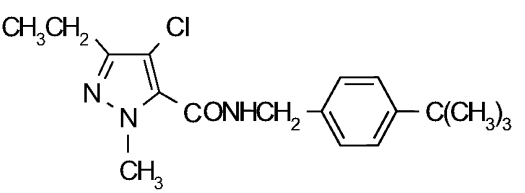
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций тебуфенпирада в воде в диапазоне 0,0005—0,005 мг/дм^3, в почве, яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: тебуфенпирад.

Название действующего вещества по ИЮПАК: N-(4-трет-бутилбензил)-4-хлор-3-этил-1-метилпиразол-5-карбоксамид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{18}H_{24}ClN_3O$.

Молекулярная масса: 333,8.

Белое кристаллическое вещество со слабым запахом. Температура плавления 64—66 °С. Давление паров $9{,}73 \times 10^{-6}$ Па (при 25 °С). Растворимость в органических растворителях (г/дм^3): аце-

тон – 819; н-гексан – 255; ацетонитрил – 785; дихлорметан > 1 044; метанол – 818; толуол – 772. Растворимость в воде при 25 °С (мг/дм³): 3,21 (pH 4); 2,39 (pH 7); 2,32 (pH 10). Тебуфенпирад гидролитически стабилен в кислых, нейтральных и щелочных условиях при комнатной температуре, DT_{50} > 28 дней (pH 5, 7 и 9). В почве подвержен аэробной деградации, DT_{50} > 20—30 дней. Коэффициент распределения н-октанол-вода K_{ow} logP = 4,93 (при 25 °С).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 786 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 3 010 мг/м³ (4 ч).

Область применения

Тебуфенпирад – акарицид класса пиразолов, рекомендуется для борьбы с клещами на семечковых культурах и виноградной лозе.

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/дм³ (мг/кг)	Показатель точности (граница относительной погрешности), %, P=0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
1	2	3	4	5	6
Вода	от 0,0005 до 0,005 вкл.	50	4,7	13	18
Почва	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	10	14

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
Яблоки (плоды)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	10	14
Виноград (ягоды)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,9	11	15
Яблочный сок	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	10	14
Виноградный сок	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,2	12	17

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/кг	Полнота извлечения вещества, %	Стандартное отклонение, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,0005	0,0005—0,005	96,23	4,63	2,47
Почва	0,01	0,01—0,1	86,89	3,34	1,78
Яблоки	0,01	0,01—0,1	87,91	3,28	1,75
Виноград	0,01	0,01—0,1	86,70	3,82	2,04
Яблочный сок	0,01	0,01—0,1	86,16	3,70	1,97
Виноградный сок	0,01	0,01—0,1	86,31	3,85	2,05

2. Метод измерений

Методика основана на определении тебуфенпирада с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронозахватным (ЭЗД) или масс-селективным детектором (МСД) после

извлечения вещества из анализируемых образцов водным ацетоном, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем. Для концентрирования и очистки пробы воды использованы концентрирующие патроны для твердофазной экстракции.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф, снабженный электронозахватным детектором с пределом детектирования по линдану $5 \cdot 10^{-14}$ г/с и автоматическим пробоотборником, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	
Газовый хроматограф, снабженный масс-селективным детектором и автоматическим пробоотборником, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	
Весы аналитические, с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности ± 0,001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 200 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-100-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Микрошприц вместимостью 10 мм^3	
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 и 250 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Тебуфенпирад, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,7%	
Азот газообразный нулевой (чистота 99,999 %) в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан (гексан)	ТУ 6-09-06-657—84
Гелий, вч, из баллона	ТУ 0271-001--45905715—02
Калий марганцово-кислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый, хч	ГОСТ 450—77
Метиловый спирт (метанол), химически чистый	ГОСТ 6995—77
Натрий серно-кислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый (хлорид натрия), хч	ГОСТ 4233—77
Силикагель, для колоночной хроматографии (0,200—0,500 мм, 40 А)	

Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора), хч	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аллонж прямой с отводом для вакуума (для работы с концентрирующими патронами)	
Аппарат для встряхивания	ТУ 64-1-2851—78
Баня водяная	
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Бумажные фильтры средней плотности (бумажные фильтры)	ТУ 6-09-1678—76
Воронки делительные вместимостью 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные типа В-36-80 ХС и В-56-80 ХС	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Гомогенизатор	
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576--9082—03
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы конические (плоскодонные) с пришлифованной пробкой вместимостью 250—300 $см^3$	ГОСТ 23932—90

Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 10, 50, 150, 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка стеклянная для препаративной хроматографии, длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Патроны концентрирующие для твердофазной экстракции, 0,4 г гидрофобного сорбента с привитыми октадецильными группами (концентрирующие патроны)	ТУ 4215-002--05451931—94
Сито с диаметром отверстий 1 мм	
Стаканы химические с носиком, вместимостью 100, 200—250, 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Установка для перегонки растворителей	
Холодильник водяной обратный	
Хроматографическая колонка капиллярная кварцевая длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, содержащая сорбент: 14 % цианпропилфенил-, 86 % диметилполисилоксана, толщина пленки сорбента 0,5 мкм (колонка №1)	
Хроматографическая колонка капиллярная кварцевая длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая	

сорбент: 5 % фенил-, 95 % диметилполисилоксана толщина пленки сорбента 0,25 мкм (колонка № 2)	
Шприц медицинский инъекционный однократного применения вместимостью 10 см^3	ГОСТ24861—91 (ИСО 7686–94)

Примечание. Допускается применение 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 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 на 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/см^2), 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, прошедшего обучение, освоившего методику, владеющего техникой, имеющего опыт работы на жидкостном хроматографе и подтвердившего 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 приборам.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, раствора внесения, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для очистки экстрактов на колонке и концентрирующем патроне, подготовка колонки с силикагелем, концентрирующих патронов, проверка хроматографического поведения тебуфенпирада на колонке с силикагелем, концентрирующем патроне.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. Ацетонитрил

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

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.

7.1.4. Этилацетат

7.1.4.1. 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.

7.1.4.2. 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.

7.2. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.2.1. Исходный раствор тебуфенпирада для градуировки (концентрация 100 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,0100 г тебуфенпирада, растворяют в 50—60 см³ ацетона, доводят ацетоном до метки, тщательно перемешивают.

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

Растворы № 1—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

7.2.2. Раствор № 1 тебуфенпирада для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ исходного раствора тебуфенпирада с концентрацией 100 мкг/см³ (п. 7.2.1), разбавляют ацетоном до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

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

7.2.3. Рабочие растворы № 2 – 5 тебуфенпирада для градуировки (концентрация 0,1—1,0 мкг/см³). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см³ градуировочного раствора № 1 с концентрацией 10 мкг/см³ (п. 7.4.2), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см³ соответственно.

Рабочие растворы хранятся в холодильнике при температуре 4—6 °С не более 20 дней.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика от концентрации тебуфенпирада в растворе, устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки № 2—5.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков действующего вещества, на основании которых строят градуировочную зависимость.

7.4. Приготовление смесей гексан—этилацетат для очистки экстрактов на колонке с силикагелем

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

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

7.4.3. Смесь гексан—этилацетат (объемное соотношение 6 : 4). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 60 см³ гексана и 40 см³ этилацетата, перемешивают.

7.5. Приготовление смесей ацетонитрил—вода для очистки водных образцов на концентрирующих патронах

7.5.1. Смесь ацетонитрил—вода (объемное соотношение 1 : 9). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ ацетонитрила и 90 см³ воды, перемешивают.

7.5.2. Смесь ацетонитрил—вода (объемное соотношение 2 : 8). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 20 см³ ацетонитрила и 80 см³ воды, перемешивают.

7.5.3. Смесь ацетонитрил—вода (объемное соотношение 4 : 6). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 40 см³ ацетонитрила и 60 см³ воды, перемешивают.

7.5.4. Смесь ацетонитрил—вода (объемное соотношение 6 : 4). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 60 см³ ацетонитрила и 40 см³ воды, перемешивают.

7.6. Подготовка концентрирующих патронов

Патрон устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума*. Сверху в патрон устанавливают медицинский шприц объемом не менее 10 см³, используемый в качестве емкости для элюента.

Концентрирующий патрон промывают последовательно 5 см³ метанола, 10 см³ бидистиллированной воды. Процедуру проводят с использованием вакуума, скорость потока растворителей через патрон не должна превышать 10 см³/мин, при этом нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.7. Проверка хроматографического поведения тебуфенпирада на концентрирующем патроне

В круглодонную колбу вместимостью 50 см³ помещают 0,2 см³ градуировочного раствора № 1 с концентрацией 10 мкг/см³

* В отсутствие специального аллонжа, жидкость продавливают через патрон с помощью шприца, скорость продавливания раствора не должна превышать 2—3 капли в секунду.

(п. 7.2.2), растворитель упаривают досуха при температуре не выше 35 °С, остаток растворяют в 1 см³ ацетонитрила, выдерживая 1 мин на ультразвуковой бане, добавляют 9 см³ воды, выдерживают 30 с на ультразуковой бане и вносят на концентрирующий патрон, подготовленный по п. 7.6. Скорость прохождения раствора через патрон не должна превышать 2—3 капли в секунду. Элюат отбрасывают.

Патрон промывают последовательно 10 см³ смеси ацетонитрил–вода (1 : 9, по объему), 10 см³ смеси ацетонитрил–вода (2 : 8, по объему) и 10 см³ смеси ацетонитрил–вода (4 : 6 по объему), элюаты отбрасывают. Высушивают патрон пропусканием воздуха (с использованием вакуума) в течение 5 мин. Тебуфенпирад элюируют с патрона 15 см³ смеси ацетонитрил–вода (6 : 4 по объему), собирая 3 порции элюата по 5 см³ каждая непосредственно в круглодонные колбы вместимостью 10 см³. Растворы упаривают досуха при температуре не выше 40 °С. Остаток в каждой колбе растворяют в 1 см³ ацетона и анализируют на содержание тебуфенпирада по п. 9.3. Определяют фракции, содержащие тебуфенпирад, полноту смывания с патрона и необходимый объем элюента.

Примечание. Проверку хроматографического поведения тебуфенпирада следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии патронов и растворителей.

7.8. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 4 г силикагеля в 20 см³ 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 6 : 4, затем 8 : 2, порциями по 30 см³, скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду. Колонка готова к работе.

7.9. Проверка хроматографического поведения тебуфенпирада на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,5 см³ раствора № 1 тебуфенпирада с концентрацией 10 мкг/см³ (п. 7.4.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см³ гексана, помещая на ультразвуковую баню на 40—60 с, и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.8. Колбу обмывают гексаном дважды, порциями по 3 см³, которые также наносят на колонку. Ско-

рость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 20 см³ гексана, 20 см³ смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему), 20 см³ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), элюаты отбрасывают.

Затем колонку промывают 100 см³ смеси гексан–этилацетат (6 : 4, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 10 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см³ ацетона и анализируют на содержание тебуфенпирада по п. 9.3.

Фракции, содержащие тебуфенпирад, объединяют и вновь анализируют.

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

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

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными: ГОСТ Р 51592—2000 «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 16270—70 «Яблоки свежие ранних сортов созревания. Технические условия», ГОСТ 21122—75 «Яблоки свежие поздних сортов созревания. Технические условия», ГОСТ 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки», ГОСТ 25896—83 «Виноград свежий столовый. Технические условия», ГОСТ 28472–90 «Виноград свежий ручной уборки для консервирования. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 26313–84 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (от 21.08.79 № 2051—79).

Отобранные пробы воды хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 суток. Почву подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в защищенном от света месте при комнатной температуре не более месяца. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С. Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр, почвы – просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм.

Пробы яблок и винограда хранят в полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 дней, для длительного хранения образцы за-

мораживают и хранят при температуре –18 °С, соки анализируют в день приготовления. Перед анализом образцы плодов яблок и ягод винограда измельчают с помощью гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

Пробу отфильтрованной воды объемом 200 см³ вносят на концентрирующий патрон, подготовленный по п. 7.6, со скоростью пропускания 2—3 капли в секунду, используя разряжение, создаваемое водоструйным насосом. Промывают патрон последовательно 10 см³ смеси ацетонитрил–вода (1 : 9, по объему), 10 см³ смеси ацетонитрил–вода (2 : 8, по объему) и 10 см³ смеси ацетонитрил–вода (4 : 6, по объему), элюаты отбрасывают. Высушивают патрон пропусканием воздуха (с использованием вакуума) в течение 5 мин. Тебуфенпирад элюируют с патрона 15 см³ смеси ацетонитрил–вода (6 : 4, по объему). Пробу переносят в круглодонную колбу вместимостью 50 см³ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С, остаток растворяют в 1 см³ ацетона и анализируют на содержание тебуфенпирада по п. 9.3.

9.2. Почва, яблоки, виноград, яблочный и виноградный соки

9.2.1. Экстракция

9.2.1.1. Почва. Образец почвы массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см³, вносят 40 см³ воды, выдерживают 5 мин при комнатной температуре, добавляют 60 см³ ацетона и экстрагируют 3 мин на ультразвуковой бане, затем помещают на аппарат для встряхивания на 1 ч.

Пробам дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной бумажный фильтр. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 70 и 50 см³ смеси ацетон–вода (3 : 2, по объему), выдерживая каждый раз по 1 мин на ультразвуковой бане и 30 мин на аппарате для встряхивания. Осадок на фильтре промывают 20 см³ той же смеси растворителей. Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в колбу для упаривания на 500 см³ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до водного остатка (объем 90—100 см³). Далее очищают перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2.2, затем на колонке с силикагелем по п. 9.2.3.

9.2.1.2. Плоды яблок, ягоды винограда. Образец измельченных проб яблок и винограда массой 20 г помещают в плоскодонную

колбу вместимостью 250 см³, добавляют 100 см³ смеси ацетон–вода (2 : 1, по объему), интенсивно встряхивают (или гомогенизируют) в течение 1 мин, затем помещают на 1 мин на ультразвуковую баню и далее на аппарат для встряхивания на 1 ч. Пробам дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной бумажный фильтр. Растительный остаток еще дважды экстрагируют 50 см³ той же смеси, выдерживая по 1 мин на ультразвуковой бане и 30 мин на аппарате для встряхивания, раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в колбу для упаривания на 500 см³ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до водного остатка (объем 60—65 см³), затем очищают перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2.2, далее на колонке с силикагелем по п. 9.2.3.

9.2.1.3. Яблочный и виноградный соки. Пробу сока массой 20 г вносят в коническую колбу на 250—300 см³, добавляют 100 см³ ацетона, помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин и выдерживают 1 ч в холодильнике (4—6 °С).

Выпавший осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной бумажный фильтр, фильтр с осадком дополнительно дважды промывают ацетоном порциями по 20 см³. Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в колбу для упаривания на 250 см³, добавляют 30 см³ воды, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до водного остатка (объем 40—45 см³) и очищают перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2.2, затем на колонке с силикагелем по п. 9.2.3.

9.2.2. Очистка экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водный остаток в колбе, полученный по пп. 9.2.1.1, 9.2.1.2 и 9.2.1.3, переносят в делительную воронку вместимостью 250 см³, колбу дополнительно обмывают деионизованной водой (20, 50 или 70 см³ соответственно для почвы, фруктов и сока), которую также переносят в воронку, вносят 5 г хлористого натрия, перемешивают. Затем в воронку вносят 50 см³ гексана, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз верхний гексановый слой переносят в коническую колбу на 250—300 см³. Экстракцию тебуфенпирада повторяют еще дважды порциями гексана объемом 20 см³. Объединенный гексановый экстракт фильтруют через слой (около 2 см) безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в конусную воронку, круглодонную колбу для упари-

вания вместимостью 250 см³, упаривают досуха и дополнительно очищают на колонке с силикагелем по п. 9.2.3.

9.2.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Остаток, полученный по п. 9.2.2, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 5 см³ гексана, помещая на ультразвуковую баню на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.8. Колбу обмывают дважды гексаном порциями по 3 см³, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Последовательно промывают колонку 20 см³ гексана, 20 см³ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 9 : 1 и 20 см³ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), элюаты отбрасывают.

Тебуфенпирад элюируют с колонки 50 см³ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 6 : 4 со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 см³, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С, остаток растворяют в 1 см³ ацетона и анализируют на содержание тебуфенпирада по п. 9.3.

9.3. Условия хроматографирования

9.3.1. Газовый хроматограф, снабженный электронозахватным детектором

Колонка капиллярная № 1, 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 60 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 40 град./мин до температуры 100 °С, выдержка 0,5 мин, нагрев колонки со скоростью 10 град./мин до температуры 250 °С, выдержка 7 мин, нагрев колонки со скоростью 40 град./мин до температуры 280 °С.

Газ 1 (азот): давление 67 кПа, скорость 35,707 см/с, поток 2,094 см³/мин.

Газ 2 (азот): деление потока 1 : 2,9; сброс 6,1 см³/мин.

Хроматографируемый объем: 1 мм³.

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

9.3.2. Хроматограф газовый с масс-селективным детектором

Колонка капиллярная № 2 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм.

Температура детектора: квадруполя 150 °С, источника 230 °С, переходной камеры 280 °С.

Температура испарителя: 250 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура 100 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 10 град./мин до температуры 250 °С, выдержка 7 мин, нагрев колонки со скоростью 30 град./мин до температуры 280 °С, выдержка 6 мин.

Газ 1 (гелий): поток в колонке 1,3 см^3/мин.

Режим сканирования – SIM: m/z 333;
m/z 318 – количественный анализ;
m/z 171;
m/z 276.

Хроматографируемый объем: 1 мм^3.

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

Пробу вводят в испаритель хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков вещества, находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию тебуфенпирада в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют ацетоном не более, чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание тебуфенпирада в пробе (X, мг/кг, мг/дм^3) рассчитывают по формуле:

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

C – концентрация тебуфенпирада, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

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

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

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

Примечание. Идентификация и расчет концентрации вещества в пробах могут быть проведены с помощью компьютерной программы обработки хроматографических данных, включенной в аналитическую систему.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

$\overline{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг, мг/дм³;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг, мг/дм³:

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

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 тебуфенпирада в пробе воды менее 0,0005 мг/дм³, пробах почвы, яблок, винограда и соков – менее 0,01 мг/кг»**.

* 0,0005 мг/дм³, 0,01 мг/кг – пределы обнаружения в воде и указанных средах 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 трех образцов концентраций для градуировки, содержание тебуфенпирада в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,1 до 1,0 мкг/см^3.

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

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

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

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

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (В = 10 % при Р = 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 тебуфенпирада, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.3.

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:

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

$\pm \Delta_{л,\bar{X}} \left(\pm \Delta_{л,\bar{X}'} \right)$ – 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:

$$\Delta_{л} = \pm (0{,}84 \cdot \Delta), \text{ где}$$

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:

$$K_K = \overline{X}' - \overline{X} - C_д, \text{ где}$$

$\overline{X}'$, $\overline{X}$, $C_д$ – 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 оперативного контроля точности К рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_K| \le K, \qquad (2)$$

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 предел 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), %.

Если выполняется условие (3), то воспроизводимость измерений считается удовлетворительной.

При превышении норматива контроля воспроизводимости эксперимент повторяют, при повторном превышении указанного норматива выясняют причины и по возможности их устраняют.

gost.e-ecolog.ru