Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе и зерне гороха, в зерне и соломе риса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3365—16

Издание официальное

Москва • 2017

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 ципроконазола в зеленой массе и зерне гороха, в зерне и соломе риса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3365—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе и зерне гороха, в зерне и соломе риса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017.—20 с.

ISBN 978—5—7508—1525—8

1. Разработаны «Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, А. В. Довгилевич, О. И. Рыбакова, А. В. Попов, Е. Н. Тестова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 20 мая 2016 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 5 июля 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

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

Подписано в печать 24.01.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25

Тираж 125 экз. Заказ 2

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
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2017
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
5 июля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе и зерне гороха, в зерне и соломе риса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

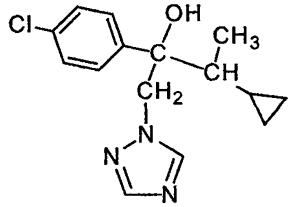
Методические указания МУК 4.1.3365—16

Свидетельство о метрологической аттестации РОСС RU.0001.310430/0211.16.10.14 от 16.10.2014.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств ципроконазола в зеленой массе и зерне гороха, в зерне и соломе риса в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг. Методические указания носят рекомендательный характер.

Ципроконазол

(2*RS*,3*RS*;2*RS*,3*SR*)-2-(4-хлорфенил)-3-циклопропил-1-(1*H*-1,2,4,-триазол-1-ил)-бутан-2-ол



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{18}ClN_3O$.

Молекулярная масса: 291,8.

Агрегатное состояние: кристаллический порошок.

Цвет, запах: бесцветный.

Давление насыщенного пара: $2,6 \times 10^{-2}$ МПа (при 25 °С).

Температура плавления: 106,2—106,9 °С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода: K_{ow}logP = 3,1.

Растворимость в воде (мг/дм^3): 140 при 25 °С, 93 при 22 °С.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3) при 25 °С: ацетон – 360, этанол – 230, метанол – 410, диметилсульфоксид – 180, ксилол – 120, толуол – 100, дихлорметан – 430, этилацетат – 240, гексан – 1,3, октанол – 100.

Ципроконазол стабилен в водных растворах при pH 1—9 при тестовом периоде 35 дней (50 °С) или 14 дней (80 °С). Медленно гидролизуется в 1н HCl и NaOH.

Не проявляет основных или кислотных свойств в диапазоне pH от 3,5 до 10.

Краткая токсикологическая характеристика. Ципроконазол относится к веществам мало опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс 1 020—1 333 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для крыс более 2 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 5 650 мг/м^3). Не вызывает раздражения глаз и не раздражает кожу. Не обладает мутагенной активностью.

Область применения. Ципроконазол – системный фунгицид защитного, куративного и искореняющего действия, быстро абсорбируется растениями и передвигается акропетально. Ингибитор деметилирования стероидов.

Предлагается в России в качестве фунгицида в посевах яровой и озимой пшеницы для борьбы с эпифитотиями бурой, желтой и стеблевой ржавчины с рекомендуемой нормой расхода по препарату 0,1 дм^3/га, с мучнистой росой, септориозом, гельминтоспориозной пятнистостью, церкоспореллезом и фузариозом колоса в дозе 0,15—0,2 дм^3/га, в посевах ржи для борьбы с возбудителями мучнистой росы, бурой ржавчины, ринхоспориоза, гельминтоспориозной пятнистостью с рекомендуемой нормой расхода 0,15—0,2 дм^3/га, в посевах сахарной свеклы против церкоспороза, мучнистой росы, ржавчины в дозе 0,15—0,2 дм^3/га.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,005 мг/кг массы тела человека; ОДК в почве – 0,2 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,001 мг/дм^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,7 мг/м^3; ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,001 мг/м^3; МДУ в сельскохозяйственной продукции (мг/кг): зерно хлебных злаков – 0,05; свекла сахарная, горох, плодовые (семечковые), виноград – 0,1.

1. Погрешность измерений

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

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

Таблица 1

Метрологические параметры для ципроконазола

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm \delta$, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Зеленая масса гороха	0,05—0,10 вкл.	50	3,15	8,76	12,26
	0,25—0,50 вкл.	25	2,38	6,62	9,26
Зерно гороха	0,05—0,10 вкл.	50	3,48	9,67	13,54
	0,25—0,50 вкл.	25	2,88	8,01	11,21
Зерно риса	0,05—0,10 вкл.	50	3,32	9,23	12,92
	0,25—0,50 вкл.	25	3,49	9,70	13,58
Солома риса	0,05—0,10 вкл.	50	2,25	6,26	8,76
	0,25—0,50 вкл.	25	3,59	9,98	13,97

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для ципроконазола

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Зеленая масса гороха	0,05	0,05—0,50	79,21	2,67	0,99
Зерно гороха	0,05	0,05—0,50	77,39	2,83	1,02
Зерно риса	0,05	0,05—0,50	85,04	2,64	1,05
Солома риса	0,05	0,05—0,50	84,87	4,25	1,68

2. Метод измерения

Метод основан на определении ципроконазола методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием детектора по захвату электронов после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами на концентрирующих патронах № 1 и на колонках с флоризилом.

Идентификация проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность метода достигается за счет подбора колонки и условий программирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I) с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 10 $мм^3$ со шкалой деления 0,1 $мм^3$ и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 %	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки; – компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	

Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Ципроконазол, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 98,5 %, чистый	ГСО 7677—99
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный	ТУ 51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, чистый	ТУ 6-09-4711—81
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с гидрофобным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм с привитыми гексадецильными (С16) группами (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 1)	ТУ 4215-002-05451931—94
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Флоризил (магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш	
Хлороформ, хч	ГОСТ 20015—88

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	

Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом ТС (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренним диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 100 % диметилполисилоксана, и толщиной пленки 0,25 мкм	
Колонки хроматографические стеклянные или пластиковые длиной 150—250 мм и диаметром 15 мм	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 % с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс, с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин	
Стаканы стеклянные термостойкие объемом 100—500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие, диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ 6-09-1678—86
Шприц инъекционный многократного применения объемом 10 $см^3$	ГОСТ 22967—90

Примечание. Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 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 норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—91.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

– процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;

– выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с флоризилом для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с флоризилом, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила. Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона. Ацетон, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцовокислый калий из расчета 100 мг/дм^3. Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды. Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 часов.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.1.4. Очистка хлороформа. Хлороформ, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем хлороформ сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Хлороформ перегоняют при температуре 61,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 61,2 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией ципроконазола 1,0 мг/см^3. Взвешивают 50 мг ципроконазола в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией ципроконазола 10,0 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранят в холодильнике в течение 1 месяца.

7.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией ципроконазола 1,0 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранят в холодильнике в течение 14 дней.

7.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией ципроконазола 0,5 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 4 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 4 хранят в холодильнике в течение 14 дней.

7.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией ципроконазола 0,2 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 5 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 5 хранят в холодильнике в течение 14 дней.

7.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией ципроконазола 0,1 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 6 используется для приготовления стандартных растворов и установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 6 хранят в холодильнике в течение 14 дней.

7.2.7. Стандартные растворы ципроконазола с концентрацией 5,0; 2,5; 2,0; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы. Методом последовательного разведения ацетоном стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 5,0; 2,5; 2,0; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3 ципроконазола и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации ципроконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.6. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения ципроконазола на ней

7.4.1. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта. В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г флоризила с зернением 60/100 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. Колонку промывают 20 см^3 ацетона и высушивают.

Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 см^3 гексана.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения ципроконазола на колонке с флоризилом. В концентратор объемом 100 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора ципроконазола в ацетоне с концентрацией 1,0 мкг/см^3 и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу последовательно обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 2 : 1 и 5 порциями объемом 5 см^3 каждая смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 8. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 см^3 ацетона и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие ципроконазол, полноту смывания с колонки и необходимый объем элюента.

Изучение поведения ципроконазола на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии флоризила.

7.5. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения ципроконазола на них

7.5.1. Подготовка концентрирующего патрона № 1 для очистки экстракта. Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин.

Патрон № 1 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 $см^3$ ацетона, а затем 10 $см^3$ воды. Элюаты отбрасывают.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения ципроконазола на концентрирующем патроне № 1. В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора ципроконазола в ацетоне с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 9 $см^3$ воды, перемешивают и наносят на подготовленный патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходный концентратор последовательно обмывают 10 $см^3$ смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 3 и 5 порциями объемом 5 $см^3$ каждая смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 1. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие ципроконазол, полноту смывания с патрона и необходимый объем элюента.

Изучение поведения ципроконазола на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.1979, а также в соответствии с ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб»,

ГОСТ Р ИСО 6497—11 «Корма для животных. Отбор проб», ГОСТ 6201—68 «Горох шлифованный. ТУ».

Пробы зеленой массы гороха хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С до 2 лет.

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

9. Выполнение определения

9.1. Зеленая масса и зерно гороха, зерно риса

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Образец измельченной зеленой массы гороха (зерна гороха или риса) массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, прибавляют туда 20 см^3 дистиллированной воды (зеленую массу не смачивать). Ципроконазол экстрагируют 50 см^3 ацетонитрила, помещая пробы на 5 минут на ультразвуковую ванну, а затем на 10 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 см^3 через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза в тех же условиях, используя каждый раз по 50 см^3.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 30 см^3 гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний (гексановый) слой отбрасывают, а ацетонитрильный экстракт возвращают в делительную воронку и промывают еще одной порцией гексана объемом 30 см^3. Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, добавляют 5 см^3 ацетона, обмывают стенки концентратора, затем прибавляют 100 см^3 дистиллированной воды, 5 г хлорида натрия, перемешивают содержимое в концентраторе и переносят в делительную воронку объемом 250 см^3. Ципроконазол экстрагируют тремя порциями хлороформа по 25 см^3, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 минуты. Хлороформ собирают через слой безводного суль-

фата натрия в концентратор объемом 250 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1. Сухой остаток, полученный в п. 9.1.2, растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см^3 воды, перемешивают и вносят на заранее подготовленный патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 3 и вносят на патрон, элюат отбрасывают. Ципроконазол элюируют 15 см^3 смеси ацетона с водой в соотношении 1 : 1. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.4. Очистка экстракта на колонке с флоризилом. Сухой остаток, полученный по п. 9.1.3, растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, добавляют 4 см^3 гексана, перемешивают и полученный раствор наносят на подготовленную колонку. Исходную колбу последовательно обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 2 : 1 и 5 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 2 : 3, элюаты отбрасывают. Ципроконазол элюируют с колонки 15 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 8, элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 5 см^3 ацетона и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.2. Солома риса

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей. Образец измельченной соломы риса массой 5 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, прибавляют туда 20 см^3 дистиллированной воды. Ципроконазол экстрагируют 100 см^3 ацетонитрила, помещая пробы на 10 минут на ультразвуковую ванну, а затем на аппарат для встряхивания проб на 10 минут. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 250 см^3 через бумажный фильтр низкой плотности. Экстракцию повторяют еще два раза в тех же условиях, используя каждый раз по 75 см^3.

К ацетонитрильному экстракту прибавляют 50 см^3 гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний (гексановый) слой отбрасывают, а ацетонитрильный экстракт возвращают в делительную воронку и промывают еще одной порцией гексана объемом 50 см^3. Гексан отбрасывают, а ацетонитрил собирают в концентратор объемом 250 см^3 через

слой безводного сульфата натрия и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2, 9.1.3 и 9.1.4.

Сухой остаток растворяют в 2,5 $см^3$ ацетона и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Условия хроматографирования

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренний диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 100 % диметилполисилоксана, и толщиной пленки 0,25 мкм.

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Температура детектора – 320 °С, поток обдува анода (азот) – 5,0 $см^3$/мин, поток поддува – 45,0 $см^3$/мин.

Температура испарителя – 260 °С, тип газа гелий, режим «сплит», давление 146,58 кПа, деление потока 10 : 1, сплит-поток 30,0 $см^3$/мин.

Программированный нагрев колонки с 200 °С (выдержка 3 мин) по 20 град/мин до 260 °С (выдержка 5 мин), режим «постоянный поток», поток колонки 2,0 $см^3$/мин, средняя скорость 30 см/с.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,1—1,0 нг.

10. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется компьютерное программное обеспечение химического анализа, которое входит в хроматографическую систему.

Содержание ципроконазола в пробах рассчитывают по формуле без учета полноты извлечения вещества из проб:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

X – содержание ципроконазола в пробе, мг/кг или мг/$дм^3$;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, Hz;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, Hz;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/$см^3$;

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

m – масса анализируемого образца, г;

P – содержание ципроконазола в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг или 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 при вероятности $P = 0{,}95$, где

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

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

«*содержание вещества в пробе менее 0,05 мг/кг**».

* 0,05 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики 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.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для ципроконазола проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 6 месяцев, при смене основного градуировочного раствора № 2 – каждый месяц, при смене основных градуировочных растворов № 3, 4, 5 и 6 – каждые 14 дней, а также в начале и окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание ципроконазола 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:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 3{,}49\text{, где}$$

X – концентрация ципроконазола контрольного измерения, мкг/см^3;

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

3,49 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 3,49 %, 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 ципроконазола, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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 и концентрация добавки соответственно, мг/кг.

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 в двух разных лабораториях, мг/кг;

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

Приложение 1

Полнота извлечения ципроконазола из зеленой массы и зерна гороха, зерна и соломы риса (5 повторностей для каждой концентрации, P = 0,95)

Среда	Ципроконазол , мг/кг		Полнота определения, %
	внесено	обнаружено	
Зеленая масса гороха	0,05	0,0396 ± 0,0012	79,2
	0,10	0,0808 ± 0,0032	80,8
	0,25	0,1951 ± 0,0058	78,0
	0,50	0,3943 ± 0,0103	78,9
Зерно гороха	0,05	0,0390 ± 0,0017	78,0
	0,10	0,0777 ± 0,0027	77,7
	0,25	0,1924 ± 0,0069	77,0
	0,50	0,3848 ± 0,0138	77,0
Зерно риса	0,05	0,0426 ± 0,0018	85,1
	0,10	0,0840 ± 0,0013	84,0
	0,25	0,2119 ± 0,0092	84,8
	0,50	0,4315 ± 0,0089	86,3
Солома риса	0,05	0,0435 ± 0,0012	87,0
	0,10	0,0860 ± 0,0022	86,0
	0,25	0,2052 ± 0,0061	82,1
	0,50	0,4221 ± 0,0188	84,4

gost.e-ecolog.ru