Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тиофанат-метила и карбендазима в зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3361—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 тиофанат-метила и карбендазима в зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3361—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств тиофанат-метила и карбендазима в зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017.—16 с.

ISBN 978—5—7508—1546—3

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» (В. И. Долженко, С. Е. Маслаков) и ООО «Инновационный центр защиты растений» (И. А. Цибульская, В. Ф. Павлова).

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 1 июля 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор К. В. Шмат
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 07.02.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 125 экз. Заказ 13

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
1 июля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тиофанат-метила и карбендазима в зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3361—16

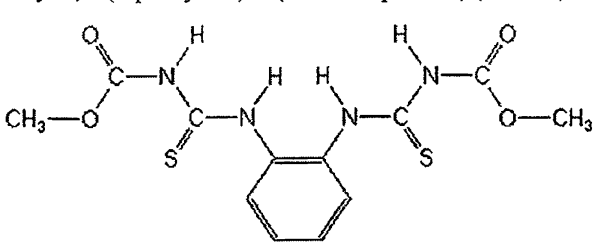
Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.226/01.00043/2015.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации тиофанат-метила в зеленой массе в диапазоне концентраций 0,5—5,0 мг/кг, в семенах и масле подсолнечника – 0,1—1,0 мг/кг; карбендазима в зеленой массе в диапазоне концентраций 0,2—2,0 мг/кг, в семенах и масле подсолнечника – 0,025—0,25 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Тиофанат-метил

Dimethyl 4,4'-(o-phenylene)bis(3-thioallophanate) (IUPAC)



$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$

Молекулярная масса: 342,39.

Химически чистое вещество представляет собой белое кристаллическое вещество.

Температура плавления: разлагается до плавления. Давление пара при 25 °С: $8,8 \times 10^{-3}$ МПа.

Растворимость (в мг/дм^3 при 20 °С): вода – 20, гексан – 0,47, ксилол – 110, метанол – 7 800, этилацетат – 8 400.

Константа диссоциации (pKa) при 25 °С: 7,28 (слабая кислота).

Стабильность к гидролизу при 20 °С: DT_{50} = 867 дней (pH 5), 36 дней (pH 7), 0,7 дней (pH 9). Период полураспада в почве: DT_{50} = 0,6 дня.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс более 5 000 мг/кг, острая дермальная токсичность LD_{50} для крыс превышает 2 000 мг/кг. Оказывает раздражающее действие на дыхательные пути, обладает репродуктивной токсичностью и мутагенностью.

Умеренно токсичен для пчел и дождевых червей.

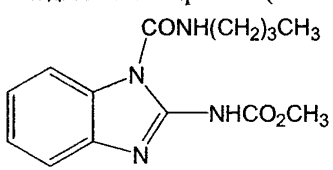
Область применения препарата: контактно-системный фунгицид с защитными и лечебными свойствами.

Механизм действия: в грибах, растениях и других биологических средах вещество превращается в карбендазим, поэтому считается, что по механизму действия тиофанат-метил аналогичен бензимидазолам.

Гигиенические нормативы для тиофанат-метила, установленные в России: МДУ в сахарной свекле – 1,0 мг/кг; в зерне хлебных злаков – 1,0 мг/кг; в плодовых семечковых – 0,1 мг/кг.

Карбендазим

Метилбензимидазол-2-илкарбамат (IUPAC).



$C_9H_9N_3O_2$

Молекулярная масса: 191,2.

Химически чистое вещество; представляет собой кристаллический порошок без цвета и запаха.

Температура плавления 302—307 °С (с разложением).

Давление пара 0,09 мПа (20 °С); 0,15 мПа (25 °С); 1,3 мПа (50 °С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол–вода $K_{ow}lgP$ = = 1,38 (pH 5); 1,51 (pH 7); 1,49 (pH 9).

Растворимость в воде (мг/дм^3, 24 °С): 29 (pH 4); 8 (pH 7); 7 (pH 8).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 24 °С): диметилформамид – 5; ацетон – 0,3, этанол – 0,3; хлороформ – 0,1; этилацетат – 0,135; дихлорметан – 0,068; бензол – 0,036; циклогексан и диэтиловый эфир – < 0,01; н-гексан – 0,0005.

Субстанция карбендазима стабильна по крайней мере в течение 2 лет при температуре хранения ниже 50 °С, а также после 7 дней интенсивного облучения светом (20 000 люкс). В щелочных растворах медленно разлагается. При 22 °С DT_{50} превышает 350 дней (pH 5 и 7) и равен 124 дням (pH 9). Будучи слабым основанием (pK_a 4.2), в кислых растворах образует стабильные водорастворимые соли.

Краткая токсикологическая характеристика: острая оральная токсичность LD_{50} для крыс 6 400 мг/кг; для собак – более 2 500 мг/кг; дермальная LD_{50} для кроликов более 10 000 мг/кг; для крыс – более 2 000 мг/кг; не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз; ингаляционная – при использовании водной суспензии 10 г/л эффект не обнаружен для крыс, кроликов, морских свинок и кошек. Период наблюдения 4 часа.

Область применения: фунгицид системного действия с длительным защитным и целебным эффектом. Эффективно подавляет развитие заболеваний растений, вызываемых грибами из родов *Septoria, Fusarium, Erysiphe* и *Pseudocercosprella* на зерновых культурах; *Sclerotinia, Alternaria* и *Cylindrosporium* на семенах рапса.

Гигиенические нормативы для карбендазима, установленные в России: МДУ в сахарной свекле – 0,1 мг/кг; в зерне хлебных злаков – 0,5 мг/кг; в плодовых семечковых – 0,2 мг/кг.

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.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности* (границы относительной погрешности ($P = 0,95$), $\pm\delta$, %	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, % ($P = 0,95$)
Тиофанат-метил						
Зеленая масса	0,5—5,0	23	8	12	22	34
Семена	0,1—1,0	23	8	12	22	34
Масло	0,1—1,0	23	8	12	22	34
Карбендазим						
Зеленая масса	0,2—2,0	23	8	12	22	34
Семена	0,025—0,25	22	6	10	17	28
Масло	0,025—0,25	23	8	12	22	34

* соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$

Таблица 2

Полнота извлечения тиофанат-метила, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Полнота извлечения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Зеленая масса	0,5	0,5—5,0	84,4	2,51	1,17
Семена	0,1	0,1—1,0	89,6	4,51	2,11
Масло	0,1	0,1—1,0	85,8	4,19	1,96

Полнота извлечения карбендазима, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для n = 20, P = 0,95

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Полнота извлечения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Зеленая масса	0,2	0,2—2,0	88,4	3,06	1,43
Семена	0,025	0,025—0,25	92,3	4,27	2,00
Масло	0,025	0,025—0,25	90,3	3,01	1,41

2. Метод измерений

Методика основана на определении тиофанат-метила и карбендазима методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового (УФ) детектора после извлечения из образцов ацетонитрилом, последующей очистки на сорбенте и в системе несмешивающихся растворителей.

Идентификация тиофанат-метила и карбендазима проводится по времени удерживания, количественное определение – методом абсолютной калибровки.

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические с пределом взвешивания до 210 г и пределом допускаемой погрешности 0,1 мг ГОСТ 53228—08

Весы технические с пределом взвешивания до 150 г и пределом допускаемой погрешности 0,1 г ГОСТ 53228—08

Жидкостной хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки.

Колбы мерные на 10, 100 $см^3$ ГОСТ 23932—90

Микродозаторы одноканальные переменного объема от 100 до 1 000 $мм^3$ и от 1 до 5 $см^3$

Цилиндры мерные на 10, 50 и 100 $см^3$ ГОСТ 23932—90

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

3.2. Реактивы

Ацетонитрил для ВЭЖХ	ТУ 2634-002-04715285—12
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Динатрия цитрат шестиводный, 99 %	
Карбендазим, с содержанием основного вещества 99,0 %	
Кислота ортофосфорная, 98 %, хч	ГОСТ 6552—80
Кислота соляная, хч	ГОСТ 3118—77
Кислота трифторуксусная, 99 %	
Магний сернокислый безводный, 99 %	
Натрий сернокислый безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрия гидроксид, чда	ГОСТ 4328—77
Натрий хлористый, чда	ГОСТ 4233—77
Натрия цитрат двуводный, 99 %	
Сорбент С18ЕС (с эндкэппингом)	
Тиофанат-метил, с содержанием основного вещества 99,3 %	
Этилацетат, хч	ГОСТ 22300—76
Сорбент (смесь первичных и вторичных аминов)	

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

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм	
Воронки делительные вместимостью 50 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10 и 25 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками объемом 15 и 50 $см^3$	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Центрифуга с максимальной рабочей частотой вращения 4 000 об./мин	
Устройство перемешивающее (50—200 колебаний в минуту)	ТУ 4389-007-44330709—11

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 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07.

Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют следующие условия:

– приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;

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

7. Подготовка к определению

7.1. Кондиционирование колонки

Перед началом работы аналитическую колонку кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,1—0,2 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. 0,05%-й раствор трифторуксусной кислоты: (0,5 ± 0,01) г трифторуксусной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.2.2. 0,005 М раствор ортофосфорной кислоты: (0,5 ± 0,01) г 98 % ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 дм^3, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.2.3. 2М раствор гидроксида натрия: в мерную колбу объемом 100 см^3 помещают 8,0 г гидроксида натрия, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.2.4. 0,1 М раствор соляной кислоты: 8,1 см^3 концентрированной соляной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 дм^3, растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.3. Приготовление основного и градуировочных растворов:

7.3.1. Основной раствор тиофанат-метила с концентрацией 0,5 мг/см^3

Точную навеску тиофанат-метила (50 ± 0,5 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.3.2. Приготовление градуировочных растворов тиофанат-метила

Градуировочные растворы с концентрациями тиофанат-метила 0,025, 0,05, 0,1, 0,25 и 0,5 мкг/см^3 готовят методом последовательного разбавления по объему, используя смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.1. Раствор № 1 с концентрацией 0,5 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,1 см^3 основного раствора и доводят до метки смесью ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.2. Раствор № 2 с концентрацией 0,25 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5,0 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.3. Раствор № 3 с концентрацией 0,1 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,05 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.2.5. Раствор № 5 с концентрацией 0,025 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки смесью ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50.

7.3.3. Основной раствор карбендазима с концентрацией 0,5 мг/см^3: точную навеску карбендазима (50 ± 0,5 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в метаноле и доводят объем до метки метанолом.

7.3.4. Приготовление градуировочных растворов карбендазима

Градуировочные растворы с концентрациями карбендазима 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см^3 готовят методом последовательного разбавления по объему, используя 0,05% трифторуксусную кислоту.

7.3.4.1. Раствор № 1 с концентрацией 1,0 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,2 см^3 основного раствора и доводят до метки 0,05 % трифторуксусной кислотой.

7.3.4.2. Раствор №2 с концентрацией 0,5 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5,0 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 % трифторуксусной кислотой.

7.3.4.3. Раствор № 3 с концентрацией 0,2 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 % трифторуксусной кислотой.

7.3.3.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,1 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 % трифторуксусной кислотой.

7.3.4.5. Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки 0,05 % трифторуксусной кислотой.

Основные растворы тиофанат-метила и карбендазима можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты определения тиофанат-метила и карбендазима используют ацетонитрильные растворы веществ, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

7.4. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация тиофанат-метила или карбендазима в растворе) в хроматограф вводят по 10 мм^3 градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации тиофанат-метила или карбендазима в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент (K) в уравнении линейной регрессии:

$C = KS$, где

S – площадь пика градуировочного раствора.

Градуировку признают удовлетворительной, если значение коэффициента линейной корреляции оказывается не ниже 0,99.

Градуировочную характеристику необходимо проверять при замене реактивов, хроматографической колонки или элементов хроматографической системы, а также при отрицательном результате контроля градуировочного коэффициента.

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

$$\frac{|C - C_K|}{C} \cdot 100 \le \lambda_{контр.}, \text{ где}$$

C – аттестованное значение массовой концентрации тиофанат-метила (или карбендазима) в градуировочном растворе,

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации тиофанат-метила (или карбендазима) в градуировочном растворе,

$\lambda_{контр.}$ – норматив контроля градуировочного коэффициента, %. ($\lambda_{контр.} = 10\%$ при $P = 0{,}95$).

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 21.08.79). Отбор проб семян подсолнечника для анализа проводят в соответствии с ГОСТ 0852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб».

Семена хранят при комнатной температуре в полотняных мешочках, перед анализом доводят до стандартной влажности и измельчают. Растительное масло хранят в холодильнике при температуре 0—4 °С в герметично закрытой стеклянной таре в течение 6 месяцев.

Для исследовательских целей допускается получение масла в день анализа в лаборатории из проб измельченных семян с помощью лабораторного пресса.

9. Проведение определения

9.1. Экстракция тиофанат-метила и карбендазима

Навеску измельченной матрицы (10 г – семена и масло, 2 г – зеленая масса) помещают в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 см^3, последовательно добавляют 10 см^3 ацетонитрила,

дистиллированную воду (10 $см^3$ для зерна, 3 $см^3$ для масла), 4 г безводного сульфата магния, 1 г хлористого натрия, 1 г цитрата натрия двуводного и 0,5 г динатрия цитрата шестиводного. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4 000 об./мин. От верхнего ацетонитрильного слоя отбирают 5 $см^3$, переносят в центрифужную пробирку вместимостью 15 $см^3$, содержащую 150 мг сорбента (смесь первичных и вторичных аминов), 150 мг С18ЕС и 900 мг безводного сульфата магния. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4 000 об./мин.

Для определения тиофанат-метила отбирают аликвоту 0,5 $см^3$, переносят ее в виалу для хроматографирования, добавляют 0,5 $см^3$ 0,005 М ортофосфорной кислоты, выдерживают в холодильнике (+4 °С) в течение 2 часов и 10 $мм^3$ водят в хроматограф.

Для определения карбендазима отбирают аликвоту 2,0 $см^3$, переносят в круглодонную колбу и быстро упаривают досуха на ротационном испарителе. К сухому остатку добавляют 5 $см^3$ 0,1 М соляной кислоты и переносят в делительную воронку. Кислый раствор промывают двумя порциями по 2 $см^3$ этилацетата, подщелачивают 2М раствором гидроксида натрия до pH 9 и экстрагируют карбендазим двумя порциями по 3 $см^3$ этилацетата. Органические фракции пропускают через слой безводного сульфата натрия, собирая в круглодонную колбу, и упаривают на роторном испарителе. Сухой остаток растворяют в 1,0 $см^3$ 0,05 % трифторуксусной кислоты и 10 $мм^3$ водят в хроматограф.

Примечание. Определение тиофанат-метила необходимо проводить сразу после приготовления пробы, так как он быстро разрушается, частично превращаясь в карбендазим. Пробы для определения карбендазима допускается хранить в холодильнике только после очистки в системе несмешивающихся растворителей.

9.2. Условия хроматографирования

Ультраэффективный жидкостный хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм. Температура колонки (30 ± 1) °С.

Тиофанат-метил: подвижная фаза: смесь ацетонитрила (А) и 0,005 М ортофосфорной кислоты (В) в градиентном режиме: 0—1 мин – 10 % А, 1—6 мин – увеличение А от 10 до 50 %, 6—15мин – 50 % А, 15—15,1 мин – уменьшение А от 50 до 10 %, 15,1—18 мин – 10 % А.

Скорость потока элюента: 0,2 см^3/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 265 нм. Объем вводимой пробы 10мм^3. Время удерживания тиофанат-метила (6,86 ± 0,01) мин.

Карбендазим: подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,05 % трифторуксусной кислоты в соотношении 10 : 90. Скорость потока элюента: 0,2 см^3/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 281 нм. Объем вводимой пробы 10 мм^3. Время удерживания карбендазима (4,58 ± 0,01) мин.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание тиофанат-метила или карбендазима в пробе (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot K \cdot V}{P}, \text{ где}$$

S_x – площадь пика тиофанат-метила или карбендазима на хроматограмме испытуемого образца, мм^2 (AU);

K – градуировочный коэффициент, найденный на стадии построения соответствующей градуировочной зависимости;

V – объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, см^3;

P – навеска анализируемого образца, г.

Содержание остаточных количеств тиофанат-метила или карбендазима в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор тиофанат-метила с концентрацией 0,5 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор карбендазима с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости ($r = 2{,}8\sigma_r$).

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), %.

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

«*содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»* (например: менее 0,1 мг/кг*, где *– 0,1 мг/кг – предел обнаружения тиофанат-метила в масле).

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода 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; при этом:

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

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), %.

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.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}} \quad (1)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \quad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

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

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

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг;

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

gost.e-ecolog.ru