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

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Методические указания
МУК 4.1.2668—10, 4.1.2675—4.1.2679—10, 4.1.2683—4.1.2684—10, 4.1.2687—10, 4.1.2690—10, 4.1.2706—4.1.2709—10, 4.1.2768—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—228 с.

1. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 10.06.2010 № 1).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 2 августа 2010 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.21

Верстка Е. В. Ломанова

Подписано в печать 25.02.11

Формат 60x88/16 Печ. л. 14,25

Тираж 200 экз. Заказ 46

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
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

Определение остаточных количеств клотианидина в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса, ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2668—10 4

Методика выполнения измерений остаточного содержания трифлоксистро-бина и его метаболита в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2675—10 20

Методика выполнения измерений остаточного содержания тиаклоприда в зеленой массе, семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2676—10 37

Методика выполнения измерений остаточного содержания протиоконазола по метаболиту протиоконазол-дестио в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2677—10 53

Определение остаточных количеств Пеноксулама в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2678—10 70

Определение остаточных количеств гидразида малеиновой кислоты (малеинового гидразида) в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2679—10 89

Методика выполнения измерений остаточного содержания триадименола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2683—10 103

Методика выполнения измерений остаточного содержания тебуконазола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2684—10 117

Методика выполнения измерений остаточного содержания мезосульфурон-метила в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2687—10 131

Методика выполнения измерений остаточного содержания спироксамина в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2690—10 149

Определение остаточных количеств эмамектина (эмамектина бензоата) в воде, почве, капусте, томатах, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2706—10 163

Измерение концентраций пикоксистробина в воздухе рабочей зоны и смывах с кожных покровов операторов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2707—10 180

Определение остаточных количеств тирама в растительном масле методом газохроматографического парофазного анализа: МУК 4.1.2708—10 192

Измерение концентраций квинмерака в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2709—10 204

Определение остаточных количеств имидаклоприда в соке яблок и черной смородины, в масле кукурузы высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2768—10 216

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
2 августа 2010 г.
Дата введения: 1 октября 2010 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методика выполнения измерений остаточного содержания тебуконазола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

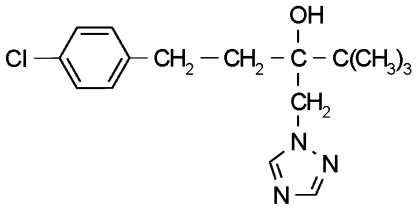
Методические указания
МУК 4.1.2684—10

1. Назначение и область применения

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой доли тебуконазола в ботве сахарной свеклы в диапазоне 0,1—1,0 млн$^{-1}$ (мг/кг), в корнеплодах сахарной свеклы в диапазоне 0,05—0,5 млн$^{-1}$ (мг/кг) методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

Название вещества по ИСО: Тебуконазол

Название по ИЮПАК: (RS)-1-п-хлорфенил-4,4-диметил-3-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)пентан-3-ол



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{22}ClN_3O$
Молекулярная масса: 307,8

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления: 105 °С. Давление паров при 20 °С: $1,7 \times 10^{-3}$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 3,7. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: дихлорметан – более 200, изопропанол, толуол – 50—100, гексан – менее 0,1, вода – 0,036.

Вещество устойчиво к гидролизу при pH 5—9 и фотолизу.

Тебуконазол медленно разрушается в почве и слабо передвигается по почвенному профилю.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс и мышей – 3 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 млн$^{-1}$ (мг/кг); острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 5 100 мг/м^3 воздуха. Тебуконазол вызывает слабое раздражение слизистой оболочки глаз у кроликов. LC_{50} для рыб 5,7 мг/дм^3 (96 ч).

Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел, дождевых червей и водорослей.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,01 млн$^{-1}$ (мг/кг) массы тела человека; МДУ в корнеплодах сахарной свеклы – 0,05 млн$^{-1}$ (мг/кг).

Область применения препарата

Тебуконазол – системный фунгицид широкого спектра действия с защитным, лечебным и искореняющим эффектом. Активен против возбудителей мучнистой росы, ржавчины, септориоза, фузариоза, ринхоспориоза на зерновых злаках, альтернариоза и склеротиниоза на рапсе. Применяется для обработки вегетирующих растений зерновых злаков и рапса в дозах до 250 г д.в. на 1 га, а также для протравливания семян в дозах до 30 г д.в. на 1 тонну. Используется также в качестве составного компонента смесевых препаратов.

2. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и ее составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон измерений массовой доли тебуконазола, $млн^{-1}$ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности), ± δ, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости, r, %, $P = 0,95$, $n = 2$	Критическая разность для результатов анализа, полученных в двух лабораториях, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$) $P = 0,95$
Ботва сахарной свеклы	От 0,10 до 0,5 вкл.	55	10	15	28	37
	Св. 0,5 до 1,0 вкл.	38	7	11	19	27
Корнеплоды сахарной свеклы	От 0,05 до 0,2 вкл.	55	9	14	25	35
	Св. 0,20 до 0,5 вкл.	37	5	8	14	20

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции тебуконазола из ботвы и корнеплодов раствором водного ацетона, очистки экстрактов, содержащих тебуконазол, от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем с последующим измерением содержания тебуконазола в очищенных экстрактах методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) при программировании температуры с термоионным детектором (ТИД) и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен.

4. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ТИД на азотсодержащие вещества с пределом детектирования не выше $2,82 \times 10^{-14}$ г/с (СКБ «Хроматэк», Россия)

Весы лабораторные общего назначения модели ВЛА-200 с наибольшим пределом взвешивания 200 г	ГОСТ 24104—2001
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 500 г	ГОСТ 24104—2001
Набор гирь	ГОСТ 7328—2001
Колбы мерные, вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Пипетки градуированные 1-1-2-1; 1-1-2-2; 1-2-2-5; 1-2-2-10	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 1-25;1-50; 1-100; 1-500; 1-1000	ГОСТ 1770—74
Шприц для ввода образцов для газового хроматографа, вместимостью 1—10 мм^3 (Hamilton, США)	

4.2. Реактивы

Аналитический стандарт тебуконазола с содержанием основного вещества 99,8 %, (Байер, Германия)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Гелий очищенный марки «А» (или азот)	ТУ 51-940—80
Вода дистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан	ТУ 6-09-3375
Натрия хлорид, квалификации хч	ГОСТ 4233—77
Натрия сульфат безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), квалификации ч	ГОСТ 22300—76

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Гомогенизатор «Omni-mixer» («Sorvall», США) или гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма «Branson Instr. Co.» (США)	
Колонка кварцевая капиллярная ZB-1, длиной 20 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза SE-30, фирма «Phenomenex» (США)	
Воронки делительные, вместимостью 100 см^3	ГОСТ 25336—82
Воронки конусные диаметром 30—37 мм	ГОСТ 25336—82

Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 50, 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Компрессор (СКБ «Хроматэк», Россия)	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696—75
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы «Buchi» (Швейцария)	ТУ 25-11-917—74
Генератор водорода, модель SPE, фирма «General Electric» (США)	
Стаканы химические, вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Силикагель (0,063—0,2 мм) для адсорбционной хроматографии («Мерк», Германия) I степени активности	
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641-75)
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678—77
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Колба Бунзена, вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82

Примечание. Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с техническими и метрологическими характеристиками не хуже приведенных в разделе 4.

5. Требования безопасности, охраны окружающей среды

5.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007-76, ГОСТ 12.1.005-88.

5.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ соблюдают требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и должны быть в наличии средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—90.

5.3. При выполнении измерений с использованием хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.4. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.51313—03 и ГН 2.2.5.2308—07.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя с опытом работы на газовом хроматографе.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

7. Условия измерений

7.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

Приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят в следующих условиях

– температура воздуха (20 ± 5) °С,

– атмосферное давление 84—106 кПа,

– относительная влажность воздуха не более 80 %.

7.2. Условия хроматографического анализа

Температура термостата испарителя 270 °С;

Температура детектора 300 °С.

Режим программирования температуры колонки:

Начальная температура 170 °С (1 мин), скорость подъёма температуры до 235 °С (0 мин) – 20 °С /мин;

от 235 до 245 °С (0 мин), скорость подъёма температуры 3 °С/мин;

от 245 до 270 °С (10 мин), скорость подъёма температуры 25 °С/мин.

Расход газов:

газа-носителя (гелий, азот) – 2,2 $см^3$/мин;

водорода к ТИД – 12,5 $см^3$/мин;

воздуха к ТИД 170 $см^3$/мин.

Деление потока 1 : 1.

Объем вводимой пробы 1 $мм^3$.

Время удерживания тебуконазола: 6 мин 15 с ± 0,2 мин.

Линейный диапазон детектирования 0,2—2,0 нг.

8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей, приготовление растворов, кондиционирование

хроматографической колонки, градуировка хроматографа, подготовка колонки с силикагелем.

8.1. Очистка органических растворителей

8.1.1. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания последней в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

8.1.2. Очистка этилацетата

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %. Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого растворяют в конической колбе в 40—60 $см^3$ дистиллированной воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора 1 неделя.

Этилацетат промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

8.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 $дм^3$ ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

8.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель I степени активности встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130 °С в течение 3 часов.

8.2. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 3 г силикагеля I степени активности в 15 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 $см^3$ гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.3. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания тебуконазола из колонки с силикагелем

При отработке методики или поступлении новой партии силикагеля проводят определение объёма элюента, необходимого для полного вымывания тебуконазола из колонки с силикагелем.

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора тебуконазола с массовой концентрацией 10 $мкг/см^3$ в этилацетате (8.5.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 3 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по 8.2. Промывают колонку 50 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем колонку с силикагелем промывают 60 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (2 : 8, по объему), отбирая последовательно фракции элюента по 10 $см^3$. Каждую фракцию упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, а затем хроматографируют. Условия хромтографирования – в соответствии с 7.2.

По результатам обнаружения тебуконазола в каждой из фракций определяют объем элюента, необходимый для полного вымывания тебуконазола из колонки.

8.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку ZB-1 (типа SE-30) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280 °С и скорости газа-носителя 2 $см^3$/мин в течение 8—10 часов.

8.5. Приготовление градуировочных растворов

8.5.1. Исходный градуировочный раствор тебуконазола с массовой концентрацией 100 $мкг/см^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г тебуконазола, растворяют в (40—50) $см^3$ этилацетата, доводят объем этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение 3-х месяцев.

8.5.2. Градуировочный раствор тебуконазола с массовой концентрацией 10 $мкг/см^3$ (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного градуировочного раствора тебуконазола с массовой концентрацией

100 мкг/см^3 (8.5.1), разбавляют этилацетатом и доводят объем раствора до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение месяца.

8.5.3. Градуировочные растворы тебуконазола с массовой концентрацией 0,2—2,0 мкг/см^3 (растворы № 2—5)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 2,0, 4,0, 10,0 и 20,0 см^3 градуировочного раствора № 1 тебуконазола с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (8.5.2), доводят объем раствора до метки этилацетатом, тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 2—5 с массовой концентрацией тебуконазола 0,2, 0,4, 1,0 и 2,0 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.6. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ · с) от концентрации тебуконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (8.5.3) и анализируют при условиях хроматографирования по 7.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8.7. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией исследуемого вещества в начале, середине и в конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца выполняется условие (1)

$$\frac{\left|S_{\text{èçì}} - S_{\text{àá}}\right|}{S_{\text{àá}}} \cdot 100 \le \hat{E}_{\text{àá}}, \text{ где} \qquad (1)$$

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика тебуконазола в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, усл. ед.;

$K_{гр}$ – норматив контроля, $K_{гр} = 0{,}5 \cdot \delta$, где

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности, %, (табл. 1).

Если условие стабильности не выполняется только для одного образца, то повторно анализируют этот образец для исключения результата, содержащего грубую ошибку.

Если градуировка нестабильна, выясняют причины нестабильности и повторяют контроль стабильности с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново.

9. Отбор, подготовка и хранение проб

Отбор проб производят в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79) и правилами, определенными ГОСТ 17421—82 «Свекла сахарная для промышленной переработки. Требования при заготовках».

Пробы ботвы и корнеплодов сахарной свеклы хранят в холодильнике 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 анализа. Перед проведением анализа ботву и корнеплоды измельчают.

9.1. Экстракция тебуконазола

Приготовление водного раствора ацетона с объемной долей 70 %. В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 350 см^3 ацетона и доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора 1 неделя.

Навеску измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, приливают 100 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 70 % и гомогенизируют 3 мин при 8 000 об./мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 водного раствора ацетона с объемной долей 70 %. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и

¼ его часть (эквивалентную 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Приготовление насыщенного раствора хлорида натрия. В коническую колбу вместимостью 200 см^3 вносят навеску (50 ± 2) г хлорида натрия, приливают (100 ± 2) см^3 дистиллированной воды, перемешивают в течение 5 мин, полученный раствор фильтруют. Фильтрат является насыщенным раствором хлорида натрия. Срок годности раствора – 1 неделя.

Экстракт, полученный по 9.1 и помещенный в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка 5—7 см^3 при температуре не выше 40 °С. К водному остатку прибавляют 20 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 30 см^3 хлористого метилена, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 хлористого метилена. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем по 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по 9.2, растворяют в 0,6 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, добавляют 2,4 см^3 гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по 8.2. Колбу обмывают 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 40 см^3 смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Тебуконазол элюируют с колонки 50 см^3 смеси гексан–этилацетат (2 : 8, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С. Сухие остатки экстрактов корнеплодов и ботвы растворяют соответственно в 1,25 и 2,5 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ван-

ну на 1 мин, и раствор анализируют на содержание тебуконазола по 10.1.

Полнота извлечения тебуконазола при проведении всех операций подготовки пробы не менее 86 %.

10. Выполнение измерений

10.1. В испаритель хроматографа вводят 1 мм^3 очищенного экстракта анализируемой пробы (9.1—9.3), анализируют при условиях 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждого образца повторяют операции по 9.1—9.3, 10.1.

11. Обработка результатов измерений

11.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации «Хроматэк Аналитик», версия 1.20.

Альтернативная обработка результатов.

Массовую долю тебуконазола X, млн$^{-1}$ в ботве и корнеплодах сахарной свеклы рассчитывают по формуле (1)

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot V}{0{,}86 \cdot S_0 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

S_1 – площадь пика тебуконазола в образце, мВ · с;

S_0 – площадь пика тебуконазола в градуировочном растворе, мВ · с;

A – массовая концентрация градуировочного раствора тебуконазола, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с силикагелем и последующего хроматографического определения, г.

11.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (3)

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли тебуконазола, млн$^{-1}$;

r – значение предела повторяемости, % (табл. 1).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МВИ.

11.3. Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$\overline{X} \pm 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \text{ при } P = 0,95, \text{ где}$$

$\overline{X}$ – среднее арифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми по 11.2, млн$^{-1}$;

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности измерений, % (табл. 1).

В случае, если полученный результат измерений ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, то производят следующую запись в журнале:

«*массовая доля тебуконазола в ботве менее 0,1 млн$^{-1}$ (более 1,0 млн$^{-1}$)*»;

«*массовая доля тебуконазола в корнеплодах менее 0,05 млн$^{-1}$ (более 0,5 млн$^{-1}$)*»;

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал тебуконазола, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 2,0 мкг/см^3, разбавляют этилацетатом, но не более чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой. При расчёте содержания тебуконазола учитывают разбавление.

12. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

12.1. Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

12.2. Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

12.3. Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ по формуле (4)

$$\frac{2 \cdot \left| X_{ñð1} - X_{ñð2} \right| \cdot 100}{(X_{ñð1} + X_{ñð2})} \le \mathrm{CD}_{0,95}, \text{ где} \qquad (4)$$

$X_{ср1}$, $X_{ср2}$ – средние значения массовой доли тебуконазола, полученные в первой и второй лабораториях, млн$^{-1}$.

$CD_{0,95}$ – значение критической разности, % (табл. 1).

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, проводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если критическая разность превышена, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (5.3.4).

13. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 и показателя правильности по 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002. Проверку стабильности осуществляют с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля стабильности результатов выполнения измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

14. Разработчики

Дубовая Л. В., науч. сотр., Макеев А. М., зав. лаб., канд. биол. наук. (ГНУ ВНИИ фитопатологии, 143050, Московская обл., п/о Большие Вяземы).

gost.e-ecolog.ru