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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник
МУК 4.1.2777—4.1.2786—10

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—179 с.

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств дифеноконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2786—10

1. Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии (Л. В. Дубовая, А. М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 14.10.2010 № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 24 ноября 2010 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 ноября 2010 г.
Дата введения: с момента утверждения.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств дифеноконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2786—10

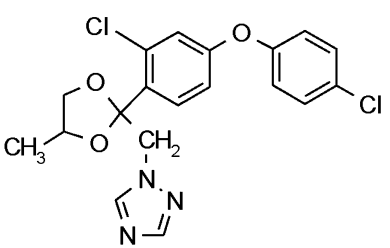
Общие положения

Свидетельство об аттестации методики № 0037.16.07.10 от 19.07.2010.

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств дифеноконазола в семенах рапса в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в зеленой массе и масле рапса в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Дифеноконазол

Название вещества по ИЮПАК: 4-хлорфениловый эфир *cis,trans*-3-хлор-4-[4-метил-2-(1Н-1,2,4-триазол-1-илметил)-1,3-диоксолан-2-ил]фенила



$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$

Мол. масса: 406,3.

Кристаллическое вещество от белого до светло-бежевого цвета. Температура плавления: 78,6 °С. Давление паров при 25 °С: $3,3 \times 10^{-5}$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 4,20. Растворимость (г/дм^3) при 25 °С: этанол – 330, ацетон – 610, толуол – 490, н-гексан – < 3,4, н-октанол – 95, вода – 0,015.

Вещество устойчиво к гидролизу и фотолизу (при естественном солнечном свете DT_{50} = 145 дней).

Дифеноконазол быстро сорбируется почвой и медленно разрушается.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1 453, для мышей – > 2 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов – > 2 010 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – > 3 300 мг/м^3 воздуха. LC_{50} для рыб 0,8—1,2 мг/дм^3 (96 ч). Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел и дождевых червей.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,01 мг/кг массы тела человека; МДУ в свекле сахарной, яблоках и грушах – 0,1 мг/кг, в зерне хлебных злаков – не допускается в пределах чувствительности метода контроля.

Область применения препарата

Дифеноконазол – системный фунгицид и протравитель семян. Обладает длительным защитным и лечебным действием против широкого круга растительных патогенов из классов аскомицетов, базидиомицетов, дейтеромицетов, включая возбудителей альтернариоза, септориоза, церкоспороза, парши, антракноза, ржавчины, мучнистой росы, а также некоторых патогенов, обитающих на семенах пшеницы, сахарной свеклы, картофеля, семечковых плодовых и овощных культур.

Применяется в России в качестве составного компонента комбинированных протравителей для предпосевной обработки семян сахарной свеклы, зерновых колосовых культур и рапса при норме расхода 45—60 г д.в./т семян, а также используется для обработки вегетирующих растений сахарной и столовой свеклы, картофеля, моркови и рапса, яблоневых и грушевых садов с нормой расхода до 100 г д.в./га.

1. 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.

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

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P = 0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r,%	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Зеленая масса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	1,9	5	6
	более 0,1 до 0,5	25	2,5	7	8
Семена	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	3,2	9	11
	более 0,1 до 0,2	25	2,6	7	9
Масло	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	2,2	6	7
	более 0,1 до 0,5	25	2,3	6	8

Таблица 2

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	0,05	0,05—0,5	85,3	2,9	± 2,7
Семена	0,02	0,02—0,2	85,5	3,1	± 2,9
Масло	0,05	0,05—0,5	84,7	2,9	± 2,7

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронозахватным детектором (ЭЗД). Контроль дифеноконазола в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из зеленой массы водным ацетоном, из семян водным метанолом и из масла ацетонитрилом, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся

растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак-диол.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ЭЗД (СКБ «Хроматэк», Россия)	номер Госреестра № 14516—95
Весы аналитические Sartorius 6110 с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и пределом допустимой погрешности 0,0001 г	ГОСТ 24104—2001
Весы лабораторные Metler P-160 с наибольшим пределом взвешивания до 160 г и пределом допустимой погрешности 0,005 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
Микрошприц МШ-1А	ТУ 64-1-2850

3.2. Реактивы

Аналитический стандарт дифеноконазола (CAS 119446-68-3) с содержанием основного вещества 99,5 % (Сингента, Швейцария)	
Ацетон, квалификации чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил, квалификации хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода дистиллированная или деионизированная	ГОСТ 6709—72
н-Гексан, квалификации хч	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый, квалификации хч	ГОСТ 4221—76
Калия перманганат, квалификации хч	ГОСТ 20490—75
Кислота серная, квалификации хч	ГОСТ 4204—77
Натрия сульфат, безводный, квалификации хч	ГОСТ 4166—76
Спирт метиловый (метанол), квалификации хч	ГОСТ 6995—77

Эфир диэтиловый, квалификации хч	ТУ 2600-001-45682126—06

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), квалификации осч	ГОСТ 9293—74
Аппарат для встряхивания проб АВУ-1	ТУ 64-1-1081—73
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая, нестерильная	ГОСТ 5556—81
Гомогенизатор «Omni-mixer» (Sorvall, США) или гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Дистиллятор Cyclon III, мод. 4 BD (Fistreem, Великобритания)	
Установка Elgastat B 114 с патроном Elgacan B 114 для получения деионизированной воды (Elga, Великобритания)	
Воронки делительные вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 25 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая ZB-1 (типа SE-30), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США) или аналогичная	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8—10 мм	
Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236—84
Патроны концентрирующие Диапак-диол (0,6 г) /ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва/	ТУ 4215-001-05451931—94
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель B-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-11-917—76
Силикагель (60-80 меш) для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) I степени активности	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82

Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641—75)
Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные	ТУ 6-09-2678—77
Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 20 $см^3$	ГОСТ 22090

Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с техническими и метрологическими характеристиками не хуже приведенных в разделе 3.

4. Требования безопасности

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

4.2. 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—83.

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

4.4. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, 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 выполнения измерений

6.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

Условия приготовления растворов и подготовки проб к анализу:

- температура воздуха (20 ± 5) °С;
- атмосферное давление (84—106) кПа;

• относительная влажность воздуха не более 80 %.

6.2. Условия хроматографического анализа

Температура термостата испарителя 275 °С;

Температура детектора 320 °С.

Режим программирования температуры колонки:

начальная температура 200 °С (2 мин), скорость подъема температуры до 270 °С (0 мин) 20 °С/мин;

от 270 до 280 °С (10 мин), скорость подъема температуры 5 °С/мин.

Расход газов:

газа-носителя (азот) 2,5 $см^3$/мин;

поддувочного газа через детектор 25 $см^3$/мин.

Деление потока: 1 : 1.

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Время удерживания дифеноконазола: 8 мин 20 с ± 2 %.

Линейный диапазон детектирования: (0,02—0,4) нг.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующих патронов Диапак-диол.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. 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.

7.1.2. Очистка ацетона

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

7.1.3. 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, высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре в тече-

ние 5—6 часов и затем активируют при температуре 130 °С в течение 5 часов.

7.2. 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.

7.3. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак-диол 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 15 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак-диол промывают последовательно с помощью медицинского шприца 10 $см^3$ ацетона и 6 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) со скоростью 5 $см^3$/мин.

7.4. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания дифеноконазола из колонки с силикагелем

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

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,2 $см^3$ градуировочного раствора № 1 дифеноконазола с массовой концентрацией 2 мкг/$см^3$ в смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) (п. 7.6.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 7.3. Промывают колонку 30 $см^3$ смеси гексан–ацетон (7 : 3, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 40 $см^3$ смеси гексан–ацетон (1 : 1, по объему), отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата, Каждую фракцию упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, сухие остатки растворяют в 1 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему),

помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и затем хроматографируют в соответствии с п. 6.2.

По результатам обнаружения дифеноконазола в каждой фракции определяют объем смеси гексан–ацетон (1 : 1, по объему), необходимый для полного вымывания фунгицида с колонки.

7.5. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания дифеноконазола из патрона Диапак-диол

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,2 $см^3$ градуировочного раствора № 1 дифеноконазола с концентрацией 2 $мкг/см^3$ в смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) (п. 7.6.2). Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 1 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на патрон Диапак-диол, подготовленный по п. 7.3. Промывают патрон 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через патрон пропускают 20 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата, Каждую фракцию упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, сухие остатки растворяют в 1 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и затем хроматографируют в соответствии с п. 6.2.

По результатам обнаружения дифеноконазола в каждой фракции определяют объем смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), необходимый для полного вымывания фунгицида из патрона.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходный раствор дифеноконазола для градуировки с массовой концентрацией 100 $мкг/см^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г дифеноконазола, растворяют в 40—50 $см^3$ смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), доводят объем раствора этой же смесью до метки, тщательно перемешивают.

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

7.6.2. Градуировочный раствор дифеноконазола с массовой концентрацией 2 мкг/см^3 (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 2 см^3 исходного раствора дифеноконазола с массовой концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.6.1), разбавляют смесью гексан–ацетон (8 : 2, по объему) до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2—5.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше (–18) °С в течение месяца.

7.6.3. Градуировочные растворы дифеноконазола с массовой концентрацией (0,02—0,2) мкг/см^3 (растворы №№ 2—5)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1,0, 2,0, 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 дифеноконазола с массовой концентрацией 2 мкг/см^3 (п. 7.6.2), доводят до метки смесью гексан–ацетон (8 : 2, по объему), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2—5 с концентрацией дифеноконазола 0,02, 0,04, 0,1 и 0,2 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ · с) от концентрации дифеноконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м градуировочным растворам (п. 7.6.3).

В испаритель (инжектор) хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 7.6.3) и анализируют при условиях п. 6.2. Каждый раствор хроматографируют дважды. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости *r*.

7.8. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменения 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:

$$\frac{S_{изм} - S_{гр}}{S_{гр}} \cdot 100 \le K_{гр}, \text{ где}$$

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

$K_{гр}$ – норматив контроля, $K_{гр} = 0{,}5\ \Delta$, 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.

8. Отбор, подготовка и хранение проб

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) и правилами, определенными ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и ГОСТ 8988—2002 «Масло рапсовое. Технические условия».

Пробы зеленой массы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более одного дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре (–18) °С до анализа. Пробы семян высушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу. Пробы масла хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция дифеноконазола

9.1.1. Зеленая масса. Образец измельченного растительного материала массой 20 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетон–вода (8 : 2, по объему) и гомогенизируют 3 мин при 10 000 об./мин. Раствор (с осадком) фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вме-

стимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 смеси ацетон–вода (8 : 2, по объему). Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают 1/10 объема экстракта (эквивалентную 2 г образца), переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и добавляют 20 см^3 дистиллированной воды. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.2. Семена. Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 70 см^3 смеси метанол–вода (8 : 2, по объему) и помещают на аппарат для встряхивания на 40 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 30 см^3 смеси метанол–вода (8 : 2, по объему). Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и ½ его часть (эквивалентную 5 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, куда приливают 20 см^3 гексана. Воронку встряхивают в течение 1 мин и после разделения фаз гексановую фракцию отбрасывают, а водно-метанольную фракцию переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.3. Масло. К образцу масла массой 5 г, помещенного в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 50 см^3 ацетонитрила, перемешивают и колбу помещают на встряхиватель на 40 мин. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в химический стакан через слой ваты, помещенной в конусную воронку. К оставшемуся в колбе маслу приливают 25 см^3 ацетонитрила и операцию экстракции повторяют. После декантации ацетонитрильного слоя вату промывают 10 см^3 ацетонитрила. Измеряют объем объединенного ацетонитрильного экстракта и 2/5 его части (эквивалентные 2 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, куда приливают 15 см^3 гексана. Воронку встряхивают в течение 1 мин и после разделения фаз ацетонитрильную фракцию переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 9.3.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракты, полученные по пп. 9.1.1 и 9.1.2 и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (5—10 см^3) при температуре не выше 40 °С. К водному

остатку прибавляют 20 см^3 дистиллированной воды, содержимое перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 30 см^3 смеси гексан–диэтиловый эфир (4 : 1, по объему), интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя по 25 см^3 смеси гексан–диэтиловый эфир (4 : 1, по объему). Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по пп. 9.1.3 и 9.2, растворяют в 0,6 см^3 ацетона, 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 п. 7.2. Колбу обмывают 2 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 20 см^3 смеси гексан–ацетон (7 : 3, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Дифеноконазол элюируют с колонки 25 см^3 смеси гексан–ацетон (1 : 1, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток экстрактов зеленой массы и семян растворяют в 5 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание дифеноконазола по п. 10. Экстракт масла дополнительно очищают с помощью концентрирующего патрона Диапак-диол.

9.4. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак-диол

Сухой остаток экстракта масла в круглодонной колбе, полученный по п. 9.3, растворяют с помощью ультразвуковой ванны в 2 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) и переносят в подготовленный концентрирующий патрон Диапак-диол (п. 7.2). Патрон промывают 2,5 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), элюат отбрасывают. Дифеноконазол элюируют 9 см^3 смеси гексан–ацетон (7 : 3, по объему) в круглодонную колбу вместимостью 25 см^3. Раствор упаривают досуха на ро-

торном испарителе при температуре не выше 30 °С. Остаток в колбе растворяют в 5 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и анализируют на содержание дифеноконазола по п. 10.

10. Выполнение измерений

10.1. В инжектор хроматографа вводят 1 мм^3 очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 9.1—9.4), анализируют при условиях (п. 6.2) и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждого образца зеленой массы, семян и масла повторяют операции по пп. 9.1—9.4, 10.1.

11. Обработка результатов измерений

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программа сбора и обработки хроматографической информации «Хроматэк Аналитик», версия 1.20.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание дифеноконазола рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{100 \cdot H_0 \cdot m} \cdot P \text{, где}$$

X – содержание дифеноконазола в пробе, мг/кг;

H_1 – площадь пика образца, мВ · с;

H_o – площадь пика стандарта, мВ · с;

A – концентрация стандартного раствора дифеноконазола, 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 патроне и последующего хроматографического определения, г.

P – содержание дифеноконазола в аналитическом стандарте, %.

12. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

13. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\overline{X} \pm \Delta)$ мг/кг (дм^3) при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\overline{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг (дм^3);

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм^3);

$$\Delta = \delta \cdot X / 100,$$

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 нижней границы определения»

менее 0,02 мг/кг для семян рапса.*

*менее 0,05 мг/кг для зеленой массы и масла рапса***

** – 0,02 мг/кг – предел обнаружения для семян.*

*** – 0,05 мг/кг – предел обнаружения для зеленой массы и масла.*

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

14. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

14.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm \Delta_{л,\overline{X}}$ ($\pm \Delta_{л,\overline{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/кг (дм^3), при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг (дм^3);

$$\Delta = \delta \cdot X / 100,$$

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\overline{X}'$, $\overline{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 12) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг (дм^3);

Норматив контроля K рассчитывают по формуле

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

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.

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

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

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

X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг (дм^3);

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

Приложение
Таблица

Полнота определения дифеноконазола в модельных матрицах (*n* = 5)

Матрица	Внесено дифеноконазола мг/кг	Открыто дифеноконазола, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Зеленая масса	0,05	83,4	± 3,7
	0,10	84,6	± 2,5
	0,25	85,6	± 2,3
	0,50	87,6	± 2,1
Семена	0,02	84,0	± 3,7
	0,04	84,4	± 3,0
	0,10	85,4	± 2,5
	0,20	88,2	± 2,2
Масло	0,05	82,8	± 2,7
	0,10	83,6	± 2,5
	0,25	85,4	± 2,2
	0,50	87,0	± 2,3

Содержание

Определение остаточных количеств Фамоксадона в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2777—10 3

Определение остаточных количеств Цимоксанила в луке-перо и луке-репке методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2778—10 23

Определение остаточных количеств Пикоксистробина в воде, почве, зерне и соломе зерновых культур, зеленой массе и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2779—10 41

Определение остаточных количеств флуазинама в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом капиллярной газожидкостной хроматографии МУК 4.1.2780—10 67

Определение остаточных количеств напропамида в семенах и масле рапса и плодах томатов методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2781—10 79

Определение остаточных количеств карбендазима в зерне гороха и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2782—10 93

Определение остаточных количеств метрафенона в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых культур, ягодах и соке винограда методом ВЭЖХ: МУК 4.1.2783—10 107

Определение остаточных количеств дифеноконазола в ягодах и соке винограда методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2784—10 121

Определение остаточных количеств паклобутразола в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2785—10 139

Определение остаточных количеств дифеноконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2786—10 159

gost.e-ecolog.ru