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 ягодах и соке винограда методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2784—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 ягодах и соке винограда методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2784—10

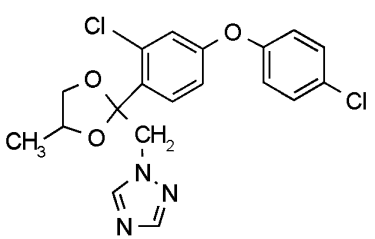
Общие положения

Свидетельство об аттестации методики № 0036.16.07.10 от 19.07.2010.

Настоящий документ устанавливает процедуру измерений массовой доли дифеноконазола в ягодах винограда в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в виноградном соке в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

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 гигиеническая 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 яблоках, грушах, сахарной свекле – 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, доверительные интервалы 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, %
Ягоды винограда	от 0,02 до 0,10 вкл.	50	2,4	7	8
	св. 0,10 до 0,20	25	1,9	5	6
Сок винограда	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,5	10	12

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, ± %
Ягоды	0,02	0,02—0,2	88,6	3,7	±3,4
Сок	0,01	0,01—0,1	90,4	2,7	±2,6

2. Метод измерений

Метод основан на экстракции дифеноконазола из ягод ацетоном, из сока смесью гексан–диэтиловый эфир (4 : 1, по объему), очистке экстрактов, содержащих дифеноконазол, от коэкстрактивных компонентов перераспределением их в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак-диол, с последующим измерением содержания дифеноконазола в очищенных экстрактах методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) при программировании температуры с электронозахватным детектором (ЭЗД) и обработкой хроматограмм 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 погрешностью 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 99,1 % (Сингента, Швейцария).	
Ацетон, квалификации ч.д.а.	ГОСТ 2603—79
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
Эфир диэтиловый, квалификации хч	ТУ 2600-001-45682126—06

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), квалификации осч	ГОСТ 9293—74
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	

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 круглодонные на шлифе вместимостью 10, 25 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая ZB-1 (типа SE-30), длина 25 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	
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 (0,063—0,20 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, Германия)	
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
Центрифуга J2-21 (Beckman, США) или аналогичная	
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 4.

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, ГОСТ 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 зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.51313—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 265 °С;

Температура детектора 300 °С.

Режим программирования температуры колонки:

начальная температура 200 °С (2 мин), скорость подъема температуры до 275 °С (7 мин) 20°/мин;

от 275 °С до 290 °С (5 мин), скорость подъема температуры 10 °С/мин.

Расход газов:
газа-носителя (азот) 2,5 $см^3$/мин;
поддувочного газа через детектор 25 $см^3$/мин.
Деление потока: 1 : 1.
Время удерживания дифеноконазола: (8,5 ± 0,2) мин.
Линейный диапазон детектирования: (0,02—0,25) 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 течение 5—6 ч и затем активируют при температуре 130 °С в течение 5 ч.

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 290 °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 $см^3$ смеси гексан–ацетон (1 : 1, по объему) и 6 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему) со скоростью 5 $см^3$/мин. Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

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 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 досуха 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 из фракций 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 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 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. 8.3. 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 3 $см^3$ 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 из фракций 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 дифеноконазола с массовой концентрацией 2 мкг/см^3 (п. 8.6.2), 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 массовой 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. Осуществляют не менее 3-х параллельных определений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

7.8. 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:

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

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

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

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 25896—83 «Виноград свежий столовый. ТУ» и ГОСТ 25892—83 «Сок виноградный. ТУ».

Пробы ягод 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. Сок получают из ягод непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом ягоды измельчают.

9. Проведение определения

9.1. Экстракция дифеноконазола

9.1.1. Ягоды. Образец измельченного растительного материала массой 25 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, добавляют 100 см^3 ацетона и гомогенизируют 3 мин при 10 000 об./мин. Гомогенат переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют 5 мин при 5 000 об./мин. Надосадочную жидкость переносят в химический стакан, а осадок в центрифужной пробирке промывают 50 см^3 ацетона и суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу. Экстракт и промывную жидкость объединяют, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают 1/5 объема экстракта (эквивалентную 5 г образца), переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и добавляют 30 см^3 дистиллированной воды. Раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водной фазы, которую переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.2. Сок. Навеску (10 г) свежевыжатого виноградного сока помещают в химический стакан вместимостью 100 $см^3$, приливают 60 $см^2$ дистиллированной воды, перемешивают, измеряют объем раствора и ½ его часть (эквивалентную 5 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К экстрактам, полученным по пп. 9.1.1 и 9.1.2 и помещенным в делительные воронки, приливают по 30 $см^3$ смеси гексан–диэтиловый эфир (4 : 1, по объему), и содержимое 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 30 и 20 $см^3$ 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. Далее проводят очистку по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2, растворяют в 0,4 $см^3$ ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, добавляют 1,6 $см^3$ гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.3. Колбу обмывают 1 $см^3$ 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 30 $см^3$ 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 и окончательную очистку экстрактов проводят по п. 9.4.

9.4. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак-диол

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.3, растворяют с помощью ультразвуковой ванны в 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон (9 : 1, по объему) и переносят в подготовленный концентрирующий патрон Диапак-диол (п. 7.3). Патрон промывают 2 $см^3$ смеси гексан–ацетон

(9 : 1, по объему), элюат отбрасывают. Дифеноконазол элюируют 8 см^3 смеси гексан–ацетон (8 : 2, по объему) в круглодонную колбу вместимостью 25 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток экстрактов сока и ягод растворяют соответственно в 2,5 и 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 ягод и сока 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.

Массовую долю дифеноконазола X (мг/кг) в образцах ягод и сока рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_0 \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

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

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

A – массовая концентрация градуировочного 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 ягод винограда.*

*менее 0,01 мг/кг для виноградного сока***

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

*** – 0,01 мг/кг – предел обнаружения для сока.*

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)

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

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, %
Ягоды винограда	0,02	84,6	± 2,7
	0,04	88,6	± 2,3
	0,10	89,2	± 2,2
	0,20	92,0	± 2,0
Виноградный сок	0,01	89,0	± 4,0
	0,02	90,2	± 3,2
	0,05	90,8	± 2,6
	0,10	91,6	± 2,0

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