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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств пирипроксифена в цитрусовых (плоды, сок) методом капиллярной газожидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3120—13**

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пирипроксифена в цитрусовых (плоды, сок) методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.—18 с.

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Т. В. Юдина, М. В. Ларькина, О. Е. Егорченкова, С. К. Рогачева).

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 29 октября 2013 г. № 3).

3. Утверждены врио руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главного государственного санитарного врача Российской Федерации А. Ю. Поповой 30 октября 2013 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.23**

**© Роспотребнадзор, 2014**
**© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014**

УТВЕРЖДАЮ
Врио руководителя Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главного государственного санитарного
врача Российской Федерации
А. Ю. Попова
30 октября 2013 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств пирипроксифена в цитрусовых (плоды, сок) методом капиллярной газожидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.3120—13

Свидетельство об аттестации № 01.00282-2008/0176.06.09.13 от 06.09.13.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для измерения концентрации пирипроксифена в цитрусовых (плоды, сок) в диапазонах 0,025—0,25 мг/кг.

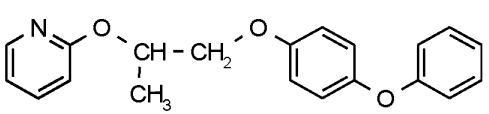
Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: пирипроксифен.

Химический класс: дифенил-производные.

Название действующего вещества по ИЮПАК: 4-феноксифенил (RS)-2-(2-пиридилокси) пропиловый эфир.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{20}H_{19}NO_3$.

Молекулярная масса: 321,37.

Порошок от белого до желтого цвета со слабым характерным запахом. Температура плавления 47,4 °С. Давление паров менее $0{,}013 \cdot 10^{-7}$ мПа (при 23 °С). Растворимость в воде 0,367 мг/дм$^3$ (при 25 °С). Коэффици-

ент распределения н-октан/вода $K_{ow}\log P = 5{,}37$ (при 25 °С). Стабильность в водных растворах: при pH 4,7,9 период полураспада более 367 дней при 20 °С.

Растворимость в органических растворителях (г/100 $см^3$): гексан – 7,67, метанол – 6,01 (при 20 °С).

*Краткая токсикологическая характеристика.* Острая пероральная токсичность ($LD_{50}$) для крыс > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность ($LD_{50}$) для крыс > 2 000 мг/кг, острая ингаляционная токсичность ($LC_{50}$) для крыс > 1 300 мг/$м^3$ при экспозиции 4 ч.

*Область применения.* Пирипроксифен – инсектицид контактного и кишечного действия из группы аналогов ювенильного гормона, подавляющий эмбриогенез и процесс метаморфоза насекомых. Активно подавляет развитие мух, жуков, комаров и других насекомых.

## 1. Погрешность измерений

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

Таблица 1

**Метрологические параметры**

| Анализируемый объект | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, %, $P = 0{,}95$ | Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), $\sigma_r$, % | Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), $\sigma_R$, % | Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), $r$, % | Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), $R$, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Плоды цитрусовых | от 0,025 до 0,25 вкл. | 50 | 2,7 | 3,8 | 7 | 11 |
| Сок цитрусовых | от 0,025 до 0,25 вкл. | 50 | 3,7 | 5,2 | 10 | 15 |

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

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, % | Доверительный интервал среднего результата, ±, % |
| Плоды цитрусовых | 0,025 | 0,025—0,25 | 92,5 | 3,77 | 2,01 |
| Сок цитрусовых | 0,025 | 0,025—0,25 | 92,9 | 3,83 | 2,04 |

## 2. Метод измерений

Метод основан на определении пирипроксифена с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) и/или масс-селективным (МСД) детекторами после извлечения вещества из анализируемых образцов ацетоном, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

## 3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

### *3.1. Средства измерений*

Газовый хроматограф, снабженный термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле $5 \cdot 10^{-13}$ г/с и автоматическим пробоотборником, предназначенный для работы с капиллярной колонкой

Газовый хроматограф, снабженный масс-селективным детектором и автоматическим пробоотборником, предназначенный для работы с капиллярной колонкой

Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст. и

| | |
|---|---|
| с пределом допустимой погрешности (1,0 ± 2,5) мм рт. ст. | ТУ 2504-1799—75 |
| Весы аналитические, с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности 0,001 г | ГОСТ Р 53228—08 |
| Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г | ГОСТ Р 53228—08 |
| Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 100, 200, 250 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |
| Меры массы | ГОСТ OIML R 111-1—09 |
| Микрошприц вместимостью 10 $мм^3$ | |
| Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 $см^3$ | ГОСТ 29227—91 |

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

### *3.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Пирипроксифен, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 100,0 % | |
| Азот газообразный (чистота 99,999 %) в баллонах | ТУ 6-21-39—96 |
| Ацетон, осч | ГОСТ 2603—79 |
| Гелий газообразный вч, в баллонах | ТУ 0271-001-45905715—02 |
| Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная) | ГОСТ Р 52501—05 |
| Калий марганцово-кислый (перманганат калия), хч | ГОСТ 20490—75 |
| Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный | ГОСТ 4221—76 |
| Кальций хлористый (хлорид кальция), хч, насыщенный водный раствор | ГОСТ 450—77 |
| Кислота серная (концентрированная), хч | ГОСТ 4204—77 |
| Метилен хлористый (дихлорметан), хч | ГОСТ 12794—84 |
| Натрий сернокислый (сульфат натрия) безводный, хч | ГОСТ 4166—76 |
| Натрий углекислый (карбонат натрия), хч | ГОСТ 83—79 |
| Натрий хлористый (хлорид натрия), хч | ГОСТ 4233—77 |
| н-Гексан (гексан), для хроматографии | ТУ 6-09-06-657—84 |
| Силикагель для колоночной хроматографии (размер частиц 0,200—0,500 мм) | |

| | |
|---|---|
| Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч | ГОСТ 22300—76 |

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

### *3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства, материалы*

| | |
|---|---|
| Аппарат для встряхивания | ТУ 64-1-2851—78 |
| Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц | |
| Баня водяная | |
| Бумажные фильтры средней и высокой плотности | ТУ 2642-001-05015242—07 |
| Воронка Бюхнера | ГОСТ 9147—80 |
| Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$ | ГОСТ 9737—93 |
| Воронки конусные диаметром 40—45 мм | ГОСТ 25336—82 |
| Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 % | ТУ 25-11-1645—84 |
| Груша резиновая | ТУ 9398-005-0576-9082—03 |
| Гомогенизатор бытовой | |
| Колба Бунзена | ГОСТ 25336—82 |
| Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 500 $см^3$ | ГОСТ 9737—93 |
| Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 150 и 250 $см^3$ | ГОСТ 9737—93 |
| Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм | |
| Насос водоструйный вакуумный | ГОСТ 25336—82 |
| Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30 | |
| Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающий вакуум до 10 мбар | |
| Стаканы химические с носиком, вместимостью 100, 150 и 250 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Стекловата | |
| Стеклянные палочки | |
| Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С | ГОСТ 28498—90 |
| Установка для перегонки растворителей | |

Хроматографическая, капиллярная, кварцевая колонка, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенил, 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм)

**Примечание.** Допускается применение оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

## 4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе на должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см$^2$), необходимо соблюдать «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576—03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

## 5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, прошедших обучение, освоивших методику, владеющих техникой, имеющих опыт работы на газовом хроматографе, и подтвердивших соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности по п. 13.

## 6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;
- выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

## 7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов и раствора внесения, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции и очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения пирипроксифена на ней.

### *7.1. Очистка органических растворителей*

*7.1.1. н-Гексан*

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

*7.1.2. Этилацетат и хлористый метилен*

*7.1.2.1. Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %.* Навеску (25 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 см$^3$, растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

*7.1.2.2. Очистка растворителей.* Каждый растворитель промывают последовательно 5 %-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

*7.1.3. Ацетон*

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

### *7.2. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения*

*7.2.1. Исходный раствор пирипроксифена для градуировки (концентрация 100 мкг/см$^3$).* В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают 0,01 г пирипроксифена, растворяют в 50—60 см$^3$ ацетона, доводят ацетоном до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

*7.2.2. Рабочий раствор № 1 пирипроксифена для внесения (концентрация 10,0 мкг/см$^3$).* В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают 10,0 см$^3$ исходного градуировочного раствора с концентрацией

100,0 мкг/см$^3$ (п. 7.2.1), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочий растворы № 1 с концентрацией пирипроксифена 10,0 мкг/см$^3$.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено» и контроля качества результатов измерений методом добавок.

*7.2.3. Рабочие растворы № 2—5 пирипроксифена для градуировки (концентрация 0,5—5,0 мкг/см$^3$).* В 4 мерные колбы вместимостью 100 см$^3$ помещают 0,5; 1,0; 2,5 и 5,0 см$^3$ исходного раствора с концентрацией 100,0 мкг/см$^3$ (п. 7.2.1), доводят до метки смесью: гексан–ацетон (2 : 8, по объему), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрациями пирипроксифена 0,5; 1,0, 2,5 и 5,0 мкг/см$^3$.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

### *7.3. Установление градуировочной характеристики*

Градуировочную характеристику, выражающую линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика от концентрации пирипроксифена в растворе, устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм$^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Устанавливают площади пиков пирипроксифена.

### *7.4. Приготовление раствора марганцово-кислого калия с массовой долей 0,1 % (0,1 %-й раствор)*

В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают 0,1 г марганцово-кислого калия, растворяют в 50—70 см$^3$ деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

### *7.5. Приготовление смеси гексан–этилацетат для очистки экстрактов на колонке с силикагелем, смеси гексан–ацетон для растворения образцов*

Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2). В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают 80 см$^3$ гексана и 20 см$^3$ этилацетата, перемешивают.

Смесь гексан–ацетон (объемное соотношение 2 : 8). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 20 $см^3$ гексана и 80 $см^3$ ацетона, перемешивают.

### *7.6. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов*

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля в 20 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают смесью гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, порцией по 20 $см^3$, скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду. Колонка готова к работе.

### *7.7. Проверка хроматографического поведения пирипроксифена на колонке с силикагелем*

В круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,5 $см^3$ раствора № 1 пирипроксифена с концентрацией 10 мкг/$см^3$, упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая на ультразвуковую баню на 30 с, и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) порциями по 5 $см^3$, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 15 $см^3$ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, элюат отбрасывают.

Затем колонку промывают 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 10 $см^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ смеси гексан–ацетон (2 : 8, по объему), анализируют содержание пирипроксифена по п. 9.4.

Фракции, содержащие пирипроксифен, объединяют и вновь анализируют.

Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

**Примечание**. Проверку хроматографического поведения пирипроксифена следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

## 8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными: ГОСТ 4427—82 «Апельсины. Технические условия»; ГОСТ 4428—82 «Мандарины. Технические условия»; ГОСТ 4492—82 «Лимоны. Технические условия», ГОСТ 26313—84 «Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб»; «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Отобранные пробы цитрусовых (плоды, сок) хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике в темноте не более 5 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Пробы сока анализируют в день изготовления.

Перед анализом образцы плодов измельчают.

## 9. Выполнение определения

### *9.1. Экстракция*

#### *9.1.1. Плоды цитрусовых*

Образец измельченных плодов цитрусовых массой 20 г помещают в коническую колбу вместимостью 250 см$^3$, добавляют 100 см$^3$ ацетона и помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин. Пробе дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через бумажный фильтр средней плотности. Растительный остаток повторно дважды экстрагируют 100 см$^3$ацетона, выдерживая на встряхивателе 30 мин. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера, осадок на фильтре промывают 20 см$^3$ ацетона.

Объединенный отфильтрованный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до объема 50—80 см$^3$, добавляют 200 см$^3$ этилацетата и повторно упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до водного остатка (3—5 см$^3$), вносят 70 см$^3$ ацетонитрила (насыщенного гексаном) и подвергают очистке по п. 9.2.

#### *9.1.2. Сок цитрусовых*

К образцу сока с мякотью массой 20 г, находящемуся в конической колбе (с пришлифованной пробкой) вместимостью 250 см$^3$, добавляют 100 см$^3$ ацетона, интенсивно встряхивают в течение 5 мин, помещают в

холодильник (4 °С) на 1 ч. Экстракт фильтруют на воронке Бюхнера через двойной бумажный фильтр средней плотности под вакуумом, дважды промывая остаток на фильтре 20 $см^3$ ацетона.

Объединенный отфильтрованный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до объема 50—80 $см^3$, добавляют 200 $см^3$ этилацетата, перемешивают и повторно упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до водного остатка (3—5 $см^3$), вносят 70 $см^3$ ацетонитрила (насыщенного гексаном) и подвергают очистке по п. 9.2.

### *9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей*

Объединенный отфильтрованный экстракт, полученный по пп. 9.1.1 или 9.1.2, переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ гексана (насыщенного ацетонитрилом), интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отделяют, верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильную фазу вновь переносят в делительную воронку и повторяют операцию промывки, используя 70 $см^3$ гексана (насыщенного ацетонитрилом). Ацетонитрильный раствор переносят в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$, упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С, вносят 100 $см^3$ 5 %-го водного раствора хлористого натрия, выдерживают 1 мин на ультразвуковой бане.

Водную фазу помещают в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 100 $см^3$ дихлорметана, интенсивно встряхивают 5 мин. После полного разделения фаз нижний дихлорметановый слой переносят в колбу для упаривания вместимостью 150 $см^3$, фильтруя через слой безводного сульфата натрия (толщиной около 1 см), помещенный на бумажном фильтре в химическую воронку.

Экстракцию пирипроксифена повторяют еще дважды порциями дихлорметана объемом 100 $см^3$, встряхивая в течение 5 мин.

Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы дихлорметана в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества.

Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 35 °С до объема 20 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ этилацетата, упаривают досуха и подвергают дополнительной очистке на колонке по п. 9.3.

### *9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем*

Остаток, полученный по п. 9.2, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), выдерживают на ультразвуковой бане 1 мин. Затем раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) порциями по 5 $см^3$, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 15 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), элюат отбрасывают.

Пирипроксифен элюируют с колонки 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ смеси гексан–ацетон (2 : 8, по объему) и анализируют по п. 9.4.

### *9.4. Условия хроматографирования*

9.4.1. *Газовый хроматограф, снабженный термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле 5 · $10^{-13}$ г/с.*

Хроматографическая, капиллярная, кварцевая колонка, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенил, 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: 300 °С

испарителя: 270°С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 180 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 270 °С, выдержка 10 мин, затем нагрев колонки до температуры 280 °С.

Газ 1 (азот): давление 125 кПа, скорость 29,169 см/с, поток 0,815 $см^3$/мин.

Газ 2: деление потока 1: 6,1; сброс 5,0 $см^3$/мин, с 1 мин – 20,0 $см^3$/мин.

Газ 3 (водород): 13,0 $см^3$/мин.

Газ 4 (воздух): 200,0 $см^3$/мин.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,5—5,0 нг.

9.4.2. *Хроматограф газовый с масс-селективным детектором (метод подтверждения)*

Хроматографическая, капиллярная, кварцевая колонка, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент 5 % – фенил 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: 300 °С,
квадруполя – 150 °С,
источника – 230 °С,
переходной камеры – 280 °С.

Температура испарителя: 270 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 200 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 5 градусов в минуту до температуры 240 °С, выдержка 4 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 260 °С, выдержка 8 мин.

Газ 1 (гелий): поток в колонке 1,2 $см^3$/мин.

Давление – 130,5 кПа.

Средняя линейная скорость – 34,1 см/с.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$

Режим сканирования – SCAN.

Линейный диапазон детектирования: 0,5—5,0 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор пирипроксифена с концентрацией 5,0 мкг/$см^3$, разбавляют смесью гексан–ацетон (2 : 8, по объему), не более чем в 50 раз.

## 10. Обработка результатов анализа

Содержание пирипроксифена в пробе ($X$, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V}{m}, \text{ где}$$

$X$ – содержание пирипроксифена в пробе, мг/кг;

$A$ – концентрация пирипроксифена, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/$см^3$;

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

$m$ – масса анализируемого образца, г;

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

## 12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

( $\bar{O} \pm \Delta$), мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

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

$\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«*содержание пирипроксифена в пробе менее 0,025 мг/кг*»*

** 0,025 мг/кг – предел обнаружения пирипроксифена в цитрусовых (плодах и соке).*

## 13. 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».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание пирипроксифена в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,5 до 5,0 мкг/см$^3$.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$$\grave{A} = \frac{(\tilde{O} - \tilde{N}) \text{Ч} 00}{\tilde{N}} \text{ J } \hat{A}, \text{ где}$$

$X$ – концентрация пирипроксифена в пробе при контрольном измерении, мкг/см$^3$;

$C$ – известная концентрация градуировочного раствора пирипроксифена, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см$^3$;

$B$ – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % ($B$ = 10 % при $P$ = 0,95).

Если величина расхождения ($A$) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов пирипроксифена, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.3.

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$\tilde{N}_d \text{ i } D_{\ddot{e},\tilde{O}} + D_{\ddot{e},\tilde{O}\ddot{y}}, \text{ где}$$

$\pm D_{\ddot{e},\tilde{O}}$ ($\pm D_{\ddot{e},\tilde{O}\ddot{y}}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/кг, при этом:

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

$\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\overline{X}\ddot{y}$, $\overline{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля $K$ рассчитывают по формуле

$$\hat{E} = \sqrt{D^2_{\ddot{e},\bar{o}\acute{y}} + D^2_{\ddot{e},\bar{o}}}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (1)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (1) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (1) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

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

Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости ($R$)

$$\frac{2\P\tilde{O}_1 - \tilde{O}_2\P 100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \text{ J } R \text{, где} \qquad (2)$$

$X_1$, $X_2$ – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

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

gost.e-ecolog.ru