Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фамоксадона в виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2271—07

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств фамоксадона в виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания

МУК 4.1.2271- 07

ББК 51.21
О60

О 60 **Определение** остаточных количеств фамоксадона в виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 22 с.

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром "Агроэкология пестицидов и агрохимикатов" Минсельхоза России (В.А. Калинин. - профессор, канд. с-х. наук, Е.В. Довгилевич - ст.н.сотр., канд. биол. наук, А.В. Довгилевич - ст.н.сотр., канд. хим. наук, Н.В. Устименко - ст.н.сотр.).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно – гигиеническому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 2 от 21. 06. 2007 г.).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 24 сентября 2007 г.

4. Введены в действие с 15 декабря 2007 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,5.

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

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

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

24 сентября 2007 г.

Дата введения: 15. 12. 2007 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы. Определение остаточных количеств Фамоксадона в виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

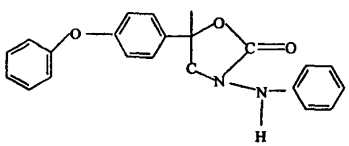
Методические указания
МУК 4.1.2271–07

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации Фамоксадона в диапазоне 0,02 – 0,2 мг/кг в виноградном соке.

Название действующего вещества по ИСО: Фамоксадон

Название действующего вещества по ИЮПАК: 3-анилино-5-метил-5-(4-феноксифенил)-2,4-оксазолидиндион.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{22}H_{18}N_2O_4$.

Молекулярная масса: 374,4.

Химически чистый Фамоксадон представляет собой светлый кремовый порошок.

Давление паров: $6,4x10^{-7}$ Па при 20° С

Температура плавления: 141,3-142,3 °С.

Коэффициент распределения н-октанол-вода: Kow logP = 4,8 (pH 5); 4,65 (pH 7); 5,55 (pH 9).

Растворимость в воде зависит от реакции среды и составляет $243x10^{-6}$ г/дм^3 при pH 5; $111x10^{-6}$ г/дм^3 при pH 7, при pH 9 вещество быстро гидролизуется.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3 при 20°С): ацетон - 274, ацетонитрил - 125, гексан – 0,0476, дихлорметан - 239, метанол - 10, толуол - 13,3, этилацетат - 124, н-октанол - 1,78.

Фамоксадон нестабилен в водных растворах. Гидролиз наблюдается в диапазоне pH 5-9, и время полураспада составляет 41 день, 2 дня и 93 минуты при pH 5,0; 7,0 и 9,0 соответственно.

Период полураспада при фотолизе составляет 4,6 дней и 3,9 часов при pH 5 и 7,75 соответственно. В почве в лабораторных условиях период полуразложения DT50 составлял 6 дней в аэробных условиях и 28 – в анаэробных. Деградация происходила путем гидроксилирования и раскрытия кольца с образованием производных гликолевой кислоты. Первичная деградация была микробной и ускорялась под действием света.

Краткая токсикологическая характеристика. Фамоксадон относится к малоопасным веществам по острой пероральной токсичности (*$ЛД_{50}$ крысы – >5000 мг/кг), по дермальной ($ЛД_{50}$* крысы – >2000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ крысы > 5300 мг/м^3). Не обладает генотоксичностью и онкогенными свойствами, не оказывает влияния на репродуктивную функцию. Из организма крыс Фамоксадон быстро выводится в неизмененном виде.

В России для Фамоксадона установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД 0,01мг/кг массы тела человека; МДУ в картофеле – 0,05 мг/кг.

Область применения. Фамоксадон - фунгицид контактного действия из группы оксазолидиндионов. Является ингибитором митохондриального дыхания, высокоэффективен против широкого

спектра патогенных грибов с рекомендуемой нормой расхода 50-200 г д.в./га.

В России используется в виде смесевых препаратов для борьбы против фитофтороза и альтернариоза на картофеле с нормой расхода 150 г д.в./га, также разрешено применение в личных подсобных хозяйствах против фитофтороза и альтернариоза на картофеле с нормой расхода 15 г/10 л воды. Проходит регистрационные испытания на томатах, винограде и подсолнечнике.

1. МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА

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

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций (n = 20) приведены в Таблице 2

Таблица 1.

Метрологические параметры для Фамоксадона

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, %
Виноградный сок	0,02-0,10	50	4	11,2	13,3
	0,1-0,2	25	3	8,4	10,0

Таблица 2.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для Фамоксадона

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Виноградный ск	0,02	0,02 – 0,2	83,8	4,26	1,7

2. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Методика основана на определении Фамоксадона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистке перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на концентрирующих патронах Диапак С16 и Диапак Амин.

Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение - методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

3. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, РЕАКТИВЫ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА И МАТЕРИАЛЫ

3.1. Средства измерений

Весы аналитические «OHAUS», Σ 11140.

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г «ACCULAB» V600.

Колбы мерные на 25, 50 и 100 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50-100 $мм^3$.

Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$, ГОСТ 20292-74.

Хроматограф жидкостной Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа, номер госрегистрации 15311-02.

Цилиндры мерные на 10, 25, 50, 100, 500 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Фамоксадон, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 97,7% (фирма Дюпон де Немур Интернэшнл, С.А)

Ацетон, осч. ТУ 2633-00-4-11291058-94

Ацетонитрил осч., УФ-205 нм, ТУ 6-09-2167-84.

Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 7602-72.

Гексан, х.ч. для спектроскопии, ТУ 6-09-06-657-84

Калий марганцовокислый, ч.д.а. ГОСТ 20490-75.

Кальций хлористый, х.ч. ГОСТ 4161-76.

Кислота ортофосфорная, 85%, Fluka, каталожный номер 79621

Натрий сернокислый, безводный, х.ч. ГОСТ 4166-76.

Натрий хлористый, х.ч. ГОСТ 4233-77.

Патроны концентрирующие Диапак С 16 (0,6 г), ТУ 4215-002-05451931-94

Патроны концентрирующие Диапак Амин (0,6 г), ТУ 4215-002-05451931-94

Эфир диэтиловый, ГОСТ 6265-74

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами Диапак С 16 и Диапак Амин.

Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1».

Банки с крышками для экстракции на 250 мл, полипропилен, кат.№3120-0250, NALGENE.

Ванна ультразвуковая «UNITRA» UNIMA OLSZTYN UM-4.

Воронки химические для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

Воронки делительные на 250 $см^3$, ГОСТ 10054-75.

Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi или ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 с водяной баней;

Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 $см^3$, КПШ-100, КПШ-250, ГОСТ 10394-72.

Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма Уотерс.

Колбы конические, плоскодонные объемом 250, 500 и 1000 $см^3$, ГОСТ 9737-70

Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 100 и 250 $см^3$, ГОСТ 10394-75

Насос диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport.

Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 18, длиной 20 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма Уотерс

Стаканы стеклянные объемом 100-500 $см^3$, ГОСТ 25366-80Е.

Установка для перегонки растворителей

Фильтры бумажные, "красная лента", ТУ-6-09-1678-86.

Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

4.1. *При выполнении измерений необходимо соблюдать* требования техники безопасности при работе с химическими реакти-

вами по гост 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по гост 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по гост 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по гост 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно-допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда по гост 12.0.004.

5. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ

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

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

6. УСЛОВИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

-процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20\pm5)^0$с и относительной влажности не более 80%.

-выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ОПРЕДЕЛЕНИЙ

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов Диапак С 16 и Диапак Амин для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на патронах, построение калибровочной кривой.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия
(А.Гордон, Р.Форд Спутник химика, Москва, 1976 г., с.438-439)

7.1.2. Очистка гексана

Гексан встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают бледно-розовым раствором перманганата калия до тех пор, пока раствор не перестанет обесцвечиваться, затем промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (А.Гордон, Р.Форд Спутник химика, Москва, 1976 г., с.441).

7.1.3. Очистка диэтилового эфира

Диэтиловый эфир сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

7.1.4. Очистка бидистиллированной воды

Бидистиллят кипятят в течение 6 часов с марганцовокислым калием, добавленным из расчета 1 г/л, и затем перегоняют.

7.2.Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

7.2.1.1. Приготовление 3,1 мМ раствора ортофосфорной кислоты

В мерную колбу объемом 2,0 $дм^3$ помещают 500 $см^3$ очищенной воды и 0,42 $см^3$ концентрированной (85%) ортофосфорной кислоты, перемешивают, доводят до метки очищенной водой и еще раз перемешивают.

7.2.1.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

В плоскодонную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 650 $см^3$ ацетонитрила и 350 $см^3$ 3,1 мМ раствора ортофосфорной кислоты в очищенной воде. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 $см^3$/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор с концентрацией Фамоксадона 1,0 мг/см^3

Взвешивают 100 мг Фамоксадона в мерной колбе объемом 100 $см^3$. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.2.2.2. Стандартный раствор с концентрацией Фамоксадона 10,0 мкг/$см^3$

Из стандартного раствора Фамоксадона с концентрацией 1,0 мг/$см^3$ отбирают пипеткой 1 $см^3$, помещают в мерную колбу

объемом 100 $см^3$ и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании.

7.2.2.3. Стандартные растворы Фамоксадона с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/$см^3$ для построения калибровочной кривой и внесения в образцы сока

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/$см^3$ и используют эти растворы для хроматографического исследования.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации Фамоксадона в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/$см^3$.

В инжектор хроматографа вводят по 20 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Измеряют площадь пиков, рассчитывают среднее значение площади пика для каждой концентрации и строят график зависимости площади пика от концентрации Фамоксадона. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений (рисунок 1).

7.4. Подготовка концентрирующих патронов, Диапак С 16 и Диапак Амин для очистки экстрактов

7.4.1. Подготовка концентрирующего патрона Диапак Амин для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин.

Патрон Диапак Амин устанавливают на аллонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают последовательно 10 см^3 смеси гексан- ацетон в соотношении 1:1 и 10 гексана. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.4.1.1. Проверка хроматографического поведения Фамоксадона на концентрирующем патроне Диапак Амин

Из стандартного раствора Фамоксадона в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/ см^3, отбирают 1 см^3, помещают в круглодонную колбу объемом 100 см^3 и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30°С. Сухой остаток растворяют в 1 см^3 ацетона, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 см^3 гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют.

Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 и двумя порциями по 5 см^3 смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 и последовательно вносят на патрон. Элюаты после прохождения каждой порции собирают в отдельные концентраторы, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Фамоксадон, объединяют их и рассчитывают объем растворителя, необходимого для вымывания вещества из патрона.

7.5.2. Подготовка концентрирующего патрона Диапак С16 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать

5 $см^3$/мин. При работе на патронах Диапак-С16 используют очищенную воду.

Патрон Диапак-С16 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:1 и 20 $см^3$ воды. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!

7.5.2.1. Проверка хроматографического поведения Фамоксадона на концентрирующем патроне Диапак С16

Из стандартного раствора Фамоксадона в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/ $см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в круглодонную колбу объемом 100 $см^3$ и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30°С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 $см^3$ воды, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют.

Исходный концентратор обмывают 10 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:4 и смесь вносят на патрон. Элюат выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Концентратор вновь обмывают 10 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:2 и смесь вносят на патрон. Элюат выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют.

Исходный концентратор еще раз обмывают двумя порциями по 10 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:1 и вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Фамоксадон, объединяют их и рассчитывают объем растворителя, необходимого для вымывания вещества из патрона.

7.6. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 с предколонкой Symmetry C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25°С и скорости потока подвижной фазы 1 $см^3$/мин 3-4 часа.

8. ОТБОР ПРОБ И ХРАНЕНИЕ

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (№ 2051-79 от 21.08.79) а также с ГОСТ 25892-83 – «Виноградный сок, ТУ».

Пробы соков хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре +4°С не более 10 суток.

9. ПРОВЕДЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЙ

9.1.Виноградный сок

9.1.1. Экстракция

Образец виноградного сока массой 10 г помещают в делительную воронку объемом 250 $см^3$, прибавляют 100 мл дистиллированной воды, 10 г сухого хлорида натрия, 50 мл диэтилового эфира и интенсивно встряхивают воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной вороне нижний водный слой помещают в коническую колбу объемом 250 $см^3$, а верхний эфирный слой с эмульсией – в химический стакан объемом 200 $см^3$. Затем водный слой возвращают в делительную воронку и повторяют экстракцию еще 2 раза в тех же условиях, используя по 30 $см^3$ диэтилового эфира. Эфирный экстракт объединяют в химическом стакане, а водную фазу отбрасывают.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Эфирный экстракт возвращают в делительную воронку, прибавляют туда же 100 мл дистиллированной воды, 10 г сухого хлорида натрия и интенсивно встряхивают воронку 2 минуты. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой отбрасывают, а верхний эфирный – собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия. Осушитель обмывают 10 мл диэтилового эфира, смыв объединяют с основным экстрактом и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

9.1.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак Амин и Диапак С 16

9.1.3.1. Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак Амин

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну и обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 $см^3$ гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Концентратор тщательно обмывают двумя порциями смеси гексан-ацетон в соотношении 9:1 по 10 и 5 $см^3$ и также вносят на патрон. Элюаты собирают, объединяют, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30° С.

9.1.3.2. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак С16

Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 $см^3$ воды, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат отбрасывают.

Исходный концентратор обмывают 10 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:4 и смесь вносят на патрон. Элюат отбрасывают.

Исходный концентратор еще раз обмывают 10 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:2 и смесь вносят на патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают 20 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1:1 и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30° С. Сухой остаток растворяют в 2-5 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматограф "Waters" или другой с аналогичными характеристиками с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны.

Колон а ст ая Symmetry Shield RP18, 4,6 мм х 25 см, зернением 5 мкм.

Предколонка стальная Symmetry C18, 3,9 мм х 2 см, зернением 5 мкм

Температура колонки: 25°С

Подвижная фаза: ацетонитрил – 3,1 мМ ортофосфорная кислота в соотношении 65:35

Длина волны 245 нм

Время удерживания Фамоксадона 10,6- 11,06 мин.

Чувствительность 0,003 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2-20 нг.

После хроматографирования каждой пробы следует промывать колонку не менее 3 минут.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Содержание Фамоксадона рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{Sпр \cdot A \cdot V}{100 \cdot Sст \cdot m} \times P$$

где X - содержание Фамоксадона в пробе, мг/кг или мг/дм^3;

Sст - высота (площадь) пика стандарта, мм;

Sпр - высота (площадь) пика образца, мм;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;

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

m - масса анализируемого образца, г (см^3);

P - содержание Фамоксадона в аналитическом стандарте, %.

11. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

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

11. ПРОВЕРКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ПАРАЛЛЕЛЬНЫХ ОПРЕДЕЛЕНИЙ

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

$$\frac{2\cdot|X_1 - X_2|\cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r \qquad (1)$$

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/кг;

r- значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\ \sigma_r$.

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

12. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности P= 0.95,

где $\bar{X}$- среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * \bar{X}/100$,

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

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

*«содержание вещества в пробе менее 0,02мг/кг»**

** - 0.02 мг/кг - предел обнаружения.*

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. 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:

$$C_д = \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'},$$

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

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$, где Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

$\Delta = \delta * \bar{X}/100$,

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д,$$

где $\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11), содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля К рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{x}} + \Delta^2_{л,\bar{x}}}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \leq K, \qquad (2)$$

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.

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

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

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

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

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

14. РАЗРАБОТЧИКИ

Калинин В.А., профессор, канд. с-х. наук, Довгилевич Е.В., ст.н. сотр., канд. биол.наук, Довгилевич А.В., ст.н.сотр., канд. хим. наук, Устименко Н.В., ст.н.сотр., канд. биол. наук.

Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976- 43-26.

gost.e-ecolog.ru