Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.2403—08**

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 этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**

МУК 4.1.2403-08

ББК 51.21
О-60

**О-60** **Определение** остаточных количеств этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 16 с.

1. Разработаны сотрудниками Всероссийского НИИ защиты растений (В.И. Долженко, И.А. Цибульская, О.С. Юзихин).
2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения (протокол № 2 от 03.07.2008 г.)
3 Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 17 июля 2008 г.
4. Введены впервые.

**ББК 51.21**

**Формат 60x88/16** **Печ. л. 1,0**

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
17 июля 2008 г.
Дата введения: 1 сентября 2008 г.

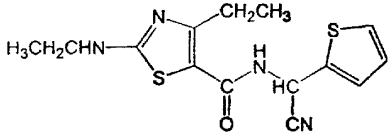
4.1.Методы контроля. Химические факторы

# Определение остаточных количеств этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.2403-08

### 1. Вводная часть

Торговое наименование: LGC-30473.
Фирма производитель: Саммит Агро Европа, Лимитед.
Действующее вещество: Этабоксам.
Структурная формула:




(*RS*)-(α-циано-2-тиэнил)-4-этил-2-(этиламино)-1,3-тиазол-5-карбоксамид (IUPAC)

N-(циано-2-тиенилметил)-4-этил-2-(этиламино)-5 тиазолкарбоксамид (CAS)

Мол. масса: 320,4
Брутто формула: $C_{14}H_{16}N_4OS_2$

Химически чистый этабоксам представляет собой белый кристаллический порошок с температурой плавления 185 °С, давлением паров $8.1x10^{-2}$ мРа (25°С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода $K_{ow}$ lgP= 2.89 (20°С, pH 7).

Растворимость в воде 4.8 мг/дм$^3$ (20°С), 5.2 мг/дм$^3$ (25°С, pH 7).

Растворимость в органических растворителях (г/дм$^3$, 20°С): н-гептан – 0.000392; ксилол – 0.136; 1,2-дихлорэтан – 2.90; метанол – 17.6; н-октанол – 0.374; ацетон – 39.7; этилацетат – 10.6. Стабилен в водных растворах при pH 4–9.

$LD_{50}$ для крыс >5000 мг/кг. Не ирритант для кожи и глаз (кролики). Ингаляционная активность $LC_{50}$>4.89 мг/дм$^3$. Не показал мутагенной активности в микробиологических тестах и тестах на животных.

Область применения: профилактический, лечебный, трансламинарный и системный фунгицид, применяется для контроля оомицетов, таких, как пушистая плесень на винограде и картофеле с нормой расхода 125 – 250 г/га. Ингибитор роста и спороношения грибов.

Гигиенические нормативы для этабоксама в России не установлены.

## 2. Методика определения этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом ВЭЖХ

### *2.1. Основные положения*

#### *2.1.1. Область применения и принцип метода*

Настоящий документ устанавливает методику определения остаточных количеств этабоксама в воде в диапазоне концентраций 0.002–0.02 мг/кг, почве – 0.01–0.1 мг/кг, ботве картофеля – 0.02–0.2 мг/кг, клубнях картофеля – 0.01–0.1 мг/кг, ягодах винограда – 0.004–0.04 мг/кг, виноградном соке – 0.004–0.04 мг/кг.

Методика основана на определении этабоксама методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов органическим растворителем с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями и на колонке с силикагелем.

#### *2.1 2. 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.

Таблица 1

**Метрологические параметры**

| Объект анализа | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % | Стандартное отклонение повторяемости, $\sigma_r$, % | Предел повторяемости, r, % | Предел воспроизводимости, R, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Вода | 0 002-0 01 | 100 | 5 2 | 14 6 | 22 6 |
| Вода | 0 01-0 02 | 50 | 5 0 | 14 0 | 21 7 |
| Почва | 0 01-0 1 | 50 | 5 7 | 16 0 | 24 8 |
| Виноград (ягоды) | 0 004 0 005 | 100 | 5 6 | 15 7 | 24 3 |
| Виноград (ягоды) | 0 005-0 04 | 50 | 5 2 | 14 6 | 22 6 |
| Виноград (сок) | 0 004-0 005 | 100 | 5 5 | 15 4 | 23 9 |
| Виноград (сок) | 0 005-0 04 | 50 | 5 1 | 14 3 | 22 2 |
| Картофель (ботва) | 0 02-0 1 | 50 | 5 3 | 14 8 | 22 9 |
| Картофель (ботва) | 0 1-0 2 | 25 | 5 2 | 14 6 | 22 6 |
| Картофель (клубни) | 0 01-0 1 | 50 | 5 1 | 14 3 | 22 2 |

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

Таблица 2

| Анализируемый объект | Предел обнаружения, мг/кг | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | Среднее значение определения % | Стандартное отклонение, S, % | Доверительный интервал среднего результата, ±, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Вода | 0 002 | 0 002-0 02 | 87 3 | 4 4 | 4 0 |
| Почва | 0 01 | 0 01 0 1 | 85 4 | 4 8 | 4 4 |
| Виноград (ягоды) | 0 004 | 0 004 0 04 | 83 0 | 4 3 | 3 9 |
| Виноград (сок) | 0 004 | 0 004-0 04 | 85 6 | 4 7 | 4 3 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Картофель (ботва) | 0.02 | 0.02-0.2 | 80.5 | 4.5 | 4.1 |
| Картофель (клубни) | 0.01 | 0.01-0.1 | 83.0 | 4.3 | 3.9 |

*2.1.3. Избирательность метода*

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографического анализа.

### *2.2. Реактивы и материалы*

Ацетон, осч, ТУ 6-09-3513-86.

Ацетонитрил для ВЭЖХ, "В-230НМ".

Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.

Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 6709-79.

Диэтиловый эфир, ч., ОСТ 84-2006-88.

Железо (II) сернокислое, х.ч., ГОСТ 4148-78.

Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.

Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161–77.

Кислота ортофосфорная, имп. (Ferak, Германия) или **хч, ГОСТ** 6552-80; 2М и 0.025М водные растворы.

Кислота серная, х.ч., ГОСТ 4204-77.

Натрий сернокислый безводный, **ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.**

Натрий хлористый, ч.д.а., ГОСТ 4233-77.

Натрия гидроксид, хч., ГОСТ 4328-77.

н-Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98, свежеперегнанный.

Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил – 0,025М ортофосфорная кислота (25:75, по объему).

Силикагель для колоночной хроматографии 60 (0.040–0.063 mm) (Merck, Германия).

Стекловата.

Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.

Элюент № 1 для колоночной хроматографии: смесь гексан – диэтиловый эфир (50: 50, по объему).

Элюент № 2 для колоночной хроматографии: смесь гексан – диэтиловый эфир (25:75, по объему).

Этабоксам, аналитический стандарт с содержанием д.в. 98%.

### *2.3. Приборы и посуда*

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы "Waters" с УФ детектором (Waters 2487) с дегазатором и автоматическим пробоотборником или аналогичный.

Колонка Symmetry C-18 (250x4.6) мм, 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная.

Предколонка Waters Symmetry C-18.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 24104-2001 или аналогичные.

Гомогенизатор, МРТУ 42-1505-63.

Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836 008.

Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный

Бидистиллятор.

pH-метр универсальный ЭВ-74, ГОСТ 22261-76.

Насос водоструйный, МРТУ 42 861-64.

Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС, ГОСТ 10384-72.

Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29-32 ТС, ГОСТ 10384-72.

Воронки лабораторные В-75-110, ГОСТ 25 336-82.

Воронки делительные ВД-3-250, ГОСТ 8613-75.

Цилиндры мерные на 100, 250 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1774-74.

Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$, ГОСТ 22292-74.

Колонки стеклянные (25×1) см.

### *2.4. Отбор и хранение проб*

Отбор проб почвы производится в соответствии с ГОСТ 28168-89 «Почвы Отбор проб»; воды - ГОСТ Р 51592-2000 «Вода Общие требования к отбору проб»; картофеля - ГОСТ 7194-81 «Картофель свежий Правила приемки и методы определения качества»; винограда – ГОСТ 25896-83 «Виноград свежий столовый Технические условия» Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Пробы ботвы и

клубней картофеля, ягод винограда хранят до анализа в морозильной камере при температуре не выше -18°С в течение месяца. Перед анализом их гомогенизируют. Пробы воды и виноградного сока хранят в холодильнике при температуре 0–4°С в течение недели.

## 2.5. Подготовка к определению

*2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей*

Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 $см^3$ растворителя упаривают в ротационном вакуумном испарителе при температуре $+40^0$С до объема 1,0 $см^3$ и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с общепринятыми методиками. Гексан встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции кислоты, затем промывают водой, 2%-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют. Диэтиловый эфир (1 $дм^3$) предварительно встряхивают с 20 $см^3$ свежеприготовленного раствора железного купороса (30 г сульфата железа в 55 $см^3$ воды с добавлением 1,5 г концентрированной серной кислоты). Затем диэтиловый эфир последовательно промывают 0,5 %-ным раствором перманганата калия, 5 %-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют. Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 $дм^3$ ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г $K_2CO_3$).

*2.5.2. Кондиционирование колонки*

Перед началом анализа колонку (Symmetry C-18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1–2 часов.

*2.5.3. Приготовление растворов*

Для приготовления 2М раствора ортофосфорной кислоты 200 г 98% (*или* 225 г 87%) *кристаллической* $H_3PO_4$ *помещают в мерную колбу* объемом 1000 $см^3$, растворяют в 600 $см^3$ дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Для приготовления 0.025М раствора ортофосфорной кислоты 12.5 $см^3$ 2М раствора $H_3PO_4$ вносят в мерную колбу на 1000 $см^3$ и доводят до метки деионизированным бидистиллятом.

Для получения 50%-го водного ацетона в колбе емкостью 1дм$^3$ смешивают 500 см$^3$ ацетона с 500 см$^3$ дистиллированной воды.

Для получения 25%-го водного ацетона в колбе емкостью 1дм$^3$ смешивают 250 см$^3$ ацетона с 750 см$^3$ дистиллированной воды.

Для приготовления насыщенного раствора хлорида натрия 380 г NaCl растворяют при нагревании в 1 л дистиллированной воды, полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр "красная лента".

Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с 0.025М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 25:75 по объёму, используя мерные цилиндры.

Для приготовления элюента №1 в колбе на 1000 см$^3$ смешивают 500 см$^3$ н-гексана и 500 см$^3$ диэтилового эфира.

Для приготовления элюента №2 в колбе на 1000 см$^3$ смешивают 250 см$^3$ н-гексана и 750 см$^3$ диэтилового эфира.

**Приготовление стандартного и градуировочных растворов:**

Берут точную навеску этабоксама (50 мг), переносят в мерную колбу на 100 см$^3$, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки (стандартный раствор с концентрацией 0.5 мг/ см$^3$). Градуировочные растворы с концентрациями 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/см$^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрил – 0.025М ортофосфорная кислота (25:75, по объему).

Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0–4°С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты открывания этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке используют ацетонитрильные растворы вещества. Растворы внесения с концентрациями 0.1 и 1.0 мкг/см$^3$ готовят из стандартного раствора с концентрацией 0.5 мг/см$^3$ методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

### *2.5.4. Построение градуировочного графика*

Для построения градуировочного графика (площадь пика - концентрация этабоксама в растворе) в хроматограф вводят по 50 мм$^3$ градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют площади пиков и строят график зависимости сред-

него значения площади пика от концентрации этабоксама в градуировочном растворе (мкг/см$^3$).

*2.5.5. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта*

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 30 см$^3$ смеси гексан – диэтиловый эфир (50:50, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 30 см$^3$ элюента №2 и 30 см$^3$ элюента №1 со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

***2.5.6. Проверка** хроматографического поведения этабоксама на колонке с силикагелем*

В круглодонную колбу емкостью 10 см$^3$ отбирают 0,1 см$^3$ стандартного раствора этабоксама с концентрацией 10 мкг/см$^3$. Отдувают растворитель током теплого воздуха (температура не выше 40°С), остаток растворяют в 5 см$^3$ элюента №1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 см$^3$ элюента №1 и также вносят на колонку. Промывают колонку 30 см$^3$ элюента №1, которые отбрасывают, затем 100 см$^3$ элюента № 2 со скоростью 1–2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 см$^3$ каждая, выпаривают, остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.3.) и анализируют на содержание этабоксама (п. 2.6.5).

Фракции, содержащие этабоксам, объединяют, выпаривают досуха, остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют (п. 2.6.5.). Рассчитывают содержание этабоксама в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

**Примечание:** параметры удерживания этабоксама и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

### *2.6. Проведение определения*

*2.6.1. Извлечение этабоксама из проб воды и виноградного сока*

Перед проведением анализа пробу виноградного сока объёмом 50 см$^3$ доводят до объёма 100 см$^3$ дистиллированной водой. Пробу воды или разбавленного сока объёмом 100 см$^3$ помещают в коническую колбу емкостью 250 см$^3$ и экстрагируют этабоксам диэтиловым эфиром трижды порциями по 50 см$^3$, встряхивая смесь каждый раз в течение

2–3 мин и собирая верхний эфирный слой.* Объединённый экстракт промывают в делительной воронке 0.025М раствором NaOH дважды порциями по 25 см$^3$, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой. Экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 см$^3$ диэтилового эфира. После этого экстракт выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. При необходимости проводят дополнительную очистку экстракта на колонке с силикагелем по пункту 2.6.4.

Сухой остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ и 50 мм$^3$ раствора вводят в жидкостный хроматограф.

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только *после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.*

*2.6.2. Извлечение этабоксама из проб ягод винограда*

Гомогенизированные пробы ягод винограда массой 50 г помещают в коническую колбу емкостью 250 см$^3$ и экстрагируют этабоксам 50 см$^3$ 75%-ного водного ацетона на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Осадок с фильтра количественно переносят назад в колбу. Экстракцию проводят ещё дважды. Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°С до полного удаления ацетона (объем 50-60 см$^3$). Объём экстракта доводят до 100 см$^3$ добавлением дистиллированной воды. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Раствор помещают в делительную воронку объёмом 250 см$^3$ и экстрагируют этабоксам диэтиловым эфиром трижды порциями по 50 см$^3$, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой.* Объединённый экстракт промывают в делительной воронке 0.025М раствором NaOH дважды порциями по 25 см$^3$, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой. Экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 см$^3$ диэтилового эфира. После этого экстракт выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.4.

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.

*2.6.3. Извлечение этабоксама из проб почвы, ботвы и клубней картофеля*

Гомогенизированные пробы клубней картофеля, воздушно-сухой почвы массой 20 г или ботвы картофеля массой 10 г помещают в коническую колбу емкостью 250 см$^3$ и экстрагируют этабоксам 50 см$^3$ 50%-ного водного ацетона на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Осадок с фильтра количественно переносят назад в колбу. Экстракцию проводят ещё дважды. Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°С до полного удаления ацетона (объем 70-75 см$^3$). Объём экстракта доводят до 100 см$^3$ добавлением дистиллированной воды. Раствор помещают в делительную воронку объёмом 250 см$^3$ и экстрагируют этабоксам диэтиловым эфиром трижды порциями по 50 см$^3$, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой.* Объединённый экстракт промывают в делительной воронке 0.025М раствором NaOH дважды порциями по 25 см$^3$, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой. Экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 см$^3$ диэтилового эфира. После этого экстракт выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.4.

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.

* В случае образования сравнительно стойких эмульсий для сокращения времени расслоения (на стадии переэкстракции из водного раствора в диэтиловый эфир) в делительную воронку можно добавить насыщенный раствор хлорида натрия (15–20 см$^3$).

*2.6.4. Очистка на колонке с силикагелем*

Сухой остаток в колбе, полученный по п.п. 2.6.1–3, количественно переносят двумя порциями по 5 см$^3$ смеси гексан – диэтиловый эфир (50:50, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п.2.5.5). Промывают колонку 30 см$^3$ элюента № 1, который отбрасывают. Этабоксам элюируют 75 см$^3$ элюента № 2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 250 см$^3$. Раствор выпаривают досуха в вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ и 50 мм$^3$ раствора вводят в жидкостный хроматограф.

*2.6.5. Условия хроматографирования*

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы «Waters» с УФ детектором (Waters 2487), снабжённый дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки или другой с аналогичными характеристиками.

Колонка Symmetry C18 (250×4.6) мм, зернение 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная.

Температура колонки 30±1°С.

Предколонка Symmetry C18 для защиты аналитической колонки.

Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.025М ортофосфорная кислота в объемном соотношении 25:75.

Скорость потока элюента: 1 $см^3$/мин.

Рабочая длина волны 235 нм.

Объем вводимой пробы 50 $мм^3$.

Время удерживания этабоксама 11.6 ± 0.2 мин.

Линейный диапазон детектирования 0.1 – 2.00 мкг/$см^3$.

*2.6.6. Обработка результатов анализа*

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание этабоксама в образцах, воды, почвы, ботвы и клубней картофеля, ягодах винограда и виноградном соке (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P},$$

где $S_1$- площадь пика этабоксама в стандартном растворе, мм;

$S_2$- площадь пика этабоксама в анализируемой пробе, мм;

V - объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, $см^3$;

P - навеска анализируемого образца, г, для воды и виноградного сока – объём в $см^3$;

C - концентрация стандартного раствора этабоксама, мкг/$см^3$.

Содержание остаточных количеств этабоксама в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2-х параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор этабоксама 2 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

## 3. 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 ($r = 2.8\sigma_r$).

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

## 4. Оформление результатов

**Результат** анализа представляют в виде:

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

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

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

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения» (например: менее 0.005 мг/кг*, где *-0.005 мг/кг – предел обнаружения).

## 5. 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».

5.1. Стабильность результатов измерений контролируют перед

проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

где $\pm \Delta_{л,X}$ ($\pm \Delta_{л,X'}$) – 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 $\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = X' - X - C_д,$$

где X', X, $C_д$ - среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.4) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля К рассчитывают по формуле:

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

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

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 к их устранению.

5.3. 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), %.

## 6. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005-88).

При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкциями по эксплуатации приборов.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91.

## 7. Требования к квалификации оператора

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 5.

## 8. Разработчики

Долженко В.И., Цибульская И.А., Юзихин О.С. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург.



gost.e-ecolog.ru