Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств циклоксидима в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, клубнях картофеля, горохе, семенах подсолнечника, рапса, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3236—14

Издание официальное

Москва • 2015

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 циклоксидима в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, клубнях картофеля, горохе, семенах подсолнечника, рапса, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3236—14

ББК 51.23
О62

О62 **Определение** остаточных количеств циклоксидима в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, клубнях картофеля, горохе, семенах подсолнечника, рапса, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—16 с.

ISBN 978—5—7508—1399—5

1. Разработаны сотрудниками ГНУ Всероссийского НИИ защиты растений Россельхозакадемии (В. И. Долженко, И. А. Цибульская, С. Е. Маслаков, В. Ф. Павлова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 6 ноября 2014 г. № 2).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 22 декабря 2014 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Н. В. Кожока
Компьютерная вёрстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 15.12.15

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 125 экз. Заказ 79

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2015
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
22 декабря 2014 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств циклоксидима в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, клубнях картофеля, горохе, семенах подсолнечника, рапса, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3236—14

Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.182/01.00043/2014.

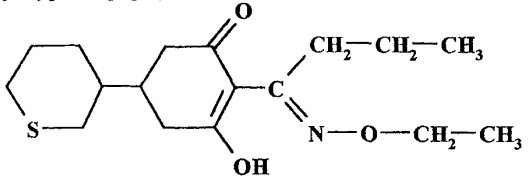
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации циклоксидима в диапазоне концентраций в воде – 0,005—0,05 мг/дм^3, почве – 0,1—1,0 мг/кг, бобах сои и ботве сахарной свеклы – 0,5—5,0 мг/кг, семенах подсолнечника, рапса и корнеплодах сахарной свеклы – 0,2—2,0 мг/кг, растительном масле – 0,2—2,0 мг/дм^3.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Циклоксидим

2-[1-(этоксиимино)бутил]-3-гидрокси-5-(тетрагидро-2*H*-тиопропан-3-ил)-2-циклогексен-1-он.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{27}NO_3S$.

Молекулярная масса: 325,46.

Белый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления: 37,1 °С.

Разлагается до кипения.

Температура разложения 200 °С.

Давление пара при 25 °С: 0,01 мПа.

Коэффициент распределения н-октанол–вода: K_{ow} logP = 1,36

Растворимость (в г/дм^3 при 20 °С): вода – 0,053, гексан – 29, ацетон – 250, этанол – 810, этилацетат – 250.

Вещество неустойчиво. Период распада в почве $ДТ_{50}$ – 4—15 дней, полевой $ДТ_{50}$ – 1—5 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс 3 940 мг/кг, острая дермальная токсичность LD_{50} для млекопитающих > 2 000 мг/кг, ингаляционная LD_{50} для млекопитающих > 5 мг/кг. $СК_{50}$ для рыб > 220 мг/л (96 ч), для пчел (LD_{50} > 100 мкг/особь).

Область применения препарата. Послевсходовый гербицид для применения на широколистных культурах (свекле, картофеле, масличных культурах, бобовых и других) для борьбы с одно- и многолетними травами.

Гигиенические нормативы для циклоксидима в России: ПДК в воздухе рабочей зоны 0,002 мг/м^3 (среднесуточная), в воде 0,01 мг/л, почве – 0,4 мг/кг. МДУ (мг/кг) – зернобобовые (в том числе горох и фасоль) – 2,0; соя (бобы, масло) – 5,0; кукуруза (зерно, масло) – 0,2; подсолнечник (семена, масло) – 1,0; капуста (кочанная, цветная) – 2,0; морковь – 0,5; виноград – 0,5; салат кочанный и листовой – 0,2; картофель – 2,0; рапс (семена) – 2,0; клубника – 0,5; свекла сахарная – 0,5.

1. Погрешность измерений

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 табл. 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{Rл}$, %	Показатель воспроизводимости, σ_R, %	Показатель точности* (границы относительной погрешности), $\pm\delta$, %
Вода	0,005—0,05	8	9	11	22
Почва	0,1—1,0	9	10	12	23
Картофель (клубни)	0,2—2,0	6	7	10	21
Сахарная свекла (корнеплоды, ботва)	0,2—2,0 0,5—5,0	6 6	7 7	10 10	21 21
Подсолнечник (семена)	0,2—2,0	6	7	10	21
Соя (бобы)	0,5—5,0	6	7	10	21
Рапс (семена)	0,2—2,0	6	7	10	21
Растительное масло	0,2—2,0	6	7	10	21
Горох (семена)	0,2—2,0	6	7	10	21
* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$					

Таблица 2

Полнота извлечения циклоксидима, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Полнота извлечения,%	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Вода	0,005	0,005—0,05	76,8	5,2	2,3
Почва	0,1	0,1—1,0	78,1	4,5	2,0
Картофель (клубни)	0,2	0,2—2,0	76,2	6,3	5,0
Сахарная свекла (корнеплоды, ботва)	0,2 0,5	0,2—2,0 0,5—5,0	75,3 72,0	5,7 8,8	4,6 7,0
Подсолнечник (семена)	0,2	0,2—2,0	81,1	5,5	4,4
Соя (бобы)	0,5	0,5—5,0	79,3	6,1	4,9
Рапс (семена)	0,2	0,2—2,0	77,4	6,7	5,4
Растительное масло	0,2	0,2—2,0	80,4	5,5	4,4
Горох (семена)	0,2	0,2—2,0	74,5	7,2	5,8

2. Метод измерений

Методика основана на определении циклоксидима методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового (УФ) детектора после извлечения из образцов воды, почвы, клубней картофеля, семян и масла сои, подсолнечника и рапса, ботвы и корнеплодов сахарной свеклы органическими растворителями, концентрирования и последующих очистках на патронах для твердофазной экстракции (ТФЭ) с привитыми монофункциональными полярными группами С16 и при необходимости дополнительно с гидрофильным слабокислотным сорбентом на основе силикагеля.

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

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Весы аналитические с пределом взвешивания до 210 г и пределом допустимой погрешности 0,2 мг	ГОСТ 24104—01
Весы технические с пределом взвешивания до 400 г и допустимой погрешностью 0,1 г	ГОСТ 24104—01
Колбы мерные на 10, 50, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Пипетки градуированные объёмом 1, 2, 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки мерные со шлифом объёмом 5, 10 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Цилиндры мерные на 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90

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

3.2. Реактивы

Циклоксидим, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,0 %	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил для ВЭЖХ	ТУ 2634-002-04715285—12
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ Р 52501—05
Гексан, хч	ТУ 2631-003-05807999—98
Дихлорметан, хч	ТУ 6-09-2662—77
Изопропиловый спирт, хч	ТУ 2632-015-11291058—95

Кислота ортофосфорная, хч, 0,005 М водный раствор	ГОСТ 6552—80
Метиловый спирт, хч	ГОСТ 6995—77
Натрий сернокислый безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Раствор № 1 (гексан–этилацетат в соотношении 2 : 1)	
Раствор № 2 (гексан–этилацетат в соотношении 1 : 1)	
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил – 0,005М раствор ортофосфорной кислоты в воде в соотношении 75 : 25	
Этиловый эфир уксусной кислоты, чда	ГОСТ 22300—76

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

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18 (150 × 3,9) мм с зернением 5 мкм	
Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-1081—73
Воронки химические конусные	ГОСТ 25336—82
Воронки делительные емкостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные конические вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 50, 100 $см^3$ и 250 мл	ГОСТ 9737—93
Патроны № 1 для ТФЭ с гидрофильным слабокислотным сорбентом с постоянной активностью на основе силикагеля, 0,4 г	ТУ 4215-002-0545-931—94
Патроны № 2 для ТФЭ на основе силикагеля с привитыми монофункциональными полярными группами С16, 0,4 г	ТУ 4215-002-0545-931—94
Предколонка для защиты аналитической колонки, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, (40 × 3,9) мм с зернением 5 мкм	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Ультразвуковая ванна с рабочей частотой 35 кГц	
Фильтры бумажные обезжиренные быстрой фильтрации	ТУ 6.091678—86

Центрифуга с максимальной рабочей частотой вращения 4 000 об./мин

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 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07.

Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации операторов

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. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют 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 жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

7.1. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа аналитическую колонку (150 × 3,9) мм кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,5—1,0 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии.

7.2. Кондиционирование патронов для твердофазной экстракции

7.2.1. Патрон № 1 на основе силикагеля с привитыми монофункциональными полярными группами С16 промывают 5 см^3 ацетонитрила.

7.2.2. Патрон № 2 с гидрофильным слабокислотным сорбентом с постоянной активностью промывают 2 см^3 раствора № 1, затем 3 см^3 гексана.

7.3. Подготовка растворителей и приготовление растворов

7.3.1. Подготовка растворителей. Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют. Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

7.3.2. 0,005 М раствор ортофосфорной кислоты: (0,5 ± 0,01) г 98 %-й ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 дм^3, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.3.3. Раствор № 1 (гексан–этилацетат в соотношении 2 : 1). В колбу на 500 см^3 помещают 200 см^3 гексана и добавляют 100 см^3 этилацетата.

7.3.4. Раствор № 2 (гексан–этилацетат в соотношении 1 : 1). В колбу на 500 см^3 помещают 200 см^3 гексана и добавляют 200 см^3 этилацетата.

7.4. Приготовление основного и градуировочных растворов

7.4.1. Основной раствор с концентрацией 0,5 мг/см^3. Точную навеску циклоксидима (50 ± 0,5) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в метаноле и доводят объем до метки метанолом.

Градуировочные растворы с концентрациями циклоксидима 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0 и 10,0 мкг/см^3 готовят методом последовательного разбавления по объему.

7.4.2. Раствор № 1 с концентрацией 10,0 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 2 см^3 основного раствора и доводят до метки ацетонитрилом.

7.4.3. Раствор № 2 с концентрацией 5 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5,0 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.4.4. Раствор № 3 с концентрацией 2 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.4.5. Раствор № 4 с концентрацией 1 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1,0 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.4.6. Раствор № 5 с концентрацией 0,5 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1,0 см^3 раствора № 2 и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.4.7. Раствор № 6 с концентрацией 0,2 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1,0 см^3 раствора № 3 и доводят объем до метки ацетонитрилом.

Основной раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение месяца, градуировочные растворы – в течение недели.

При определении полноты извлечения для внесения в образец следует использовать растворы циклоксидима в ацетонитриле.

7.5. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация циклоксидима в растворе) в хроматограф вводят по 20 мм^3 градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации циклоксидима в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент (K_1) в уравнении линейной регрессии концентрации раствора C:

$$C = K_1 \cdot S \text{, где}$$

S – площадь пика градуировочного раствора.

Градуировку признают удовлетворительной, если значение коэффициента линейной корреляции оказывается не ниже 0,99.

Градуировочную характеристику необходимо проверять при замене реактивов, хроматографической колонки или элементов хроматографической системы, а также при отрицательном результате контроля градуировочного коэффициента.

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

$$\frac{|C - C_K|}{C} \cdot 100 \le \lambda_{контр.}, \text{ где}$$

C – аттестованное значение массовой концентрации циклоксидима в градуировочном растворе;

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации циклоксидима в градуировочном растворе;

$\lambda_{контр.}$ – норматив контроля градуировочного коэффициента, %. ($\lambda_{контр.}$ = 10 % при P = 0,95).

7.6. Подготовка приборов и средств измерения

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения производится в соответствии с требованиями технической документации.

7.7. Проверка хроматографического поведения циклоксидима на патронах для ТФЭ

7.7.1. Проверка хроматографического поведения циклоксидима на патроне № 1 для ТФЭ.

На подготовленный патрон № 1 (п. 7.2.1) вносят 1 $см^3$ градуировочного раствора циклоксидима с концентрацией 10 мкг/$см^3$. Элюируют циклоксидим ацетонитрилом со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 $см^3$ и анализируют по п. 9.3.

Фракции, содержащие циклоксидим, объединяют и вновь анализируют. Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с патрона и необходимый для очистки объем элюата.

7.7.2. Проверка хроматографического поведения циклоксидима на патроне № 2 для ТФЭ.

В круглодонную колбу емкостью 10 $см^3$ отбирают 1 $см^3$ градуировочного раствора циклоксидима с концентрацией 10 мкг/$см^3$. Растворитель выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 40 °С. Остаток растворяют в 1 $см^3$ гексана и переносят на подготовленный патрон (п. 7.2.2). Колбу обмывают 1 $см^3$ гексана и смыв тоже переносят на патрон. Промывают патрон 3 $см^3$ гексана, элюат отбрасывают. Затем элюируют циклоксидим раствором № 1 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 $см^3$, упаривают досуха, растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила и анализируют по п. 9.3.

Фракции, содержащие циклоксидим, объединяют и вновь анализируют. Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с патрона и необходимый для очистки объем элюата.

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 в соответствии с ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб»; ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб»; ГОСТ 1722—85 «Свекла столовая свежая, заготовляемая и поставляемая»; ГОСТ 7194—81 «Картофель свежий. Правила приемки и методы определения качества»; отбор проб семян подсолнечника, рапса и бобов сои для анализа проводят в соответствии с ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и

методы отбора проб»; ГОСТ 28674—90 «Горох. Требования при заготовке и поставке».

Отобранные пробы хранят до анализа в герметичной полиэтиленовой упаковке в морозильной камере при –18 °С. Пробы почвы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Перед анализом сухую почву доводят до стандартной влажности, просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Пробы картофеля и сахарной свеклы перед анализом, не размораживая, измельчают. Семена рапса, сои, подсолнечника и гороха перед анализом доводят до стандартной влажности и измельчают. Пробы воды и растительного масла хранят в холодильнике при температуре 0—4 °С в герметично закрытой стеклянной таре не более месяца.

9. Проведение определения

9.1. Экстракция циклоксидима

9.1.1. Вода

В круглодонную колбу на 500 см^3 помещают 200 см^3 анализируемой воды. Воду выпаривают на вакуумном ротационном испарителе досуха при температуре бани 40 °С. Остаток растворяют в 5 см^3 ацетонитрила и хроматографируют по п. 9.3.

9.1.2. Экстракция циклоксидима из почвы, корнеплодов сахарной свеклы, семян рапса, сои, подсолнечника, зерна гороха

Навеску почвы, измельченных проб семян масличных, корнеплодов сахарной свеклы или зерна гороха (10 ± 0,1) г помещают в плоскодонную коническую колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 30 см^3 ацетонитрила, колбу помещают в ультразвуковую ванну на 5 мин или в аппарат для встряхивания на 15 мин. Суспензию центрифугируют 10 мин при 5 000 об./мин. Экстракт фильтруют в круглодонную колбу на 250 см^3 через бумажный обезжиренный фильтр быстрой фильтрации. Повторяют экстракцию еще 3 раза. Фильтр промывают 10 см^3 ацетонитрила. Объединенный экстракт выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 40 °С. Остаток растворяют в 5—10 см^3 ацетонитрила. Отбирают 1 см^3 раствора и проводят очистку на патроне № 1 для ТФЭ (п. 9.2.1.)

9.1.3. Экстракция циклоксидима из растительного масла

Навеску масла (10÷20 ± 0,1) г помещают в делительную воронку на 100 см^3 и экстрагируют 4 раза по 30 см^3 ацетонитрилом. Объединенный экстракт упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Остаток растворяют в 10 см^3 ацето-

нитрила. Отбирают 1 см^3 раствора и проводят очистку на патроне № 1 для ТФЭ (п. 9.2.1)

9.1.4. Экстракция циклоксидима из ботвы сахарной свеклы, клубней картофеля

Навеску 10 г измельченной пробы помещают в коническую колбу емкостью 100 см^3, добавляют 30 см^3 раствора гексан–ацетон в соотношении 1 : 1 и перемешивают на аппарате для встряхивания в течение 15 мин. Суспензию центрифугируют 10 мин при 5 000 об./мин. Экстракт фильтруют в круглодонную колбу емкостью 250 см^3 методом декантации через бумажный фильтр со слоем безводного сульфата натрия. Фильтр с сульфатом натрия промывают раствором гексан–ацетон три раза по 20 см^3. Объединенный экстракт упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Остаток растворяют в 10 см^3 ацетонитрила. Отбирают 1 см^3 раствора и проводят очистку на патроне № 1 для ТФЭ (п. 9.2).

9.2. Очистка на патронах для ТФЭ

9.2.1. Очистка на патроне № 1: 1 см^3 растворенного в ацетонитриле экстракта переносят на подготовленный по п. 7.2.1 патрон № 1. Элюируют циклоксидим 4 см^3 ацетонитрила со скоростью 1—2 капли в секунду. Элюат упаривают досуха, растворяют в 1 см^3 ацетонитрила и анализируют по п. 9.3.

В случае наличия в контрольных пробах мешающих определению примесей проводят очистку экстракта на патронах № 2 с гидрофильным слабокислотным сорбентом с постоянной активностью на основе силикагеля.

9.2.2. Очистка на патроне № 2: в круглодонную колбу емкостью 10 см^3 отбирают 1 см^3 растворенного в ацетонитриле экстракта. Растворитель выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 40 °С. Остаток растворяют в 1 см^3 гексана и переносят на подготовленный патрон (п. 7.2). Колбу обмывают 1 см^3 гексана и смыв тоже переносят на патрон. Промывают патрон 3 см^3 гексана, элюат отбрасывают. Затем элюируют циклоксидим 5 см^3 раствора № 1 со скоростью 1—2 капли в секунду. Элюат упаривают досуха, растворяют в 1 см^3 ацетонитрила и анализируют по п. 9.3.

Примечание. Хроматографирование экстрактов ввиду нестабильности циклоксидима рекомендуется проводить сразу после приготовления. Хранение экстрактов подготовленных проб в холодильнике при температуре 0—4 °С не более 72 часов.

9.3. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки.

Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18 (150 × 3,9) мм с зернением 5 мкм. Предколонка для защиты аналитической колонки, заполненная сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18 (40 × 3,9) мм с зернением 5 мкм.

Температура колонки (30 ± 1) °С. Подвижная фаза: ацетонитрил–0,005 М ортофосфорная кислота в соотношении 75 : 25. Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 260 нм. Объем вводимой пробы 20 $мм^3$. Время удерживания циклоксидима (5,1 ± 0,2) мин.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание циклоксидима в пробе (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot K \cdot V}{P} \cdot \frac{100}{f}, \text{ где}$$

S_x – площадь пика циклоксидима на хроматограмме испытуемого образца, $мм^2$ (AU);

K – градуировочный коэффициент, найденный на стадии построения соответствующей градуировочной зависимости;

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

P – навеска анализируемого образца, г;

f – полнота извлечения циклоксидима, приведенная в табл. 2, %.

Содержание остаточных количеств циклоксидима в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор циклоксидима с концентрацией 2,0 мкг/$см^3$, разбавляют ацетонитрилом.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

X – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

δ – 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 0,2 мг/кг*, где * – 0,2 мг/кг – предел обнаружения циклоксидима в зерне гороха).

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «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 с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm \Delta_{л,X}$ $(\pm \Delta_{л,X'})$ – 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:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = X' - X - C_д, \text{ где}$$

X', 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:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,X'} + \Delta^2_{л,X}} \qquad (1)$$

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 к 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):

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

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

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

gost.e-ecolog.ru