Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств бифеназата и D 3598 в воде, почве, яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3100—13

Издание официальное

Москва • 2014

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 бифеназата и D 3598 в воде, почве, яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3100—13

ББК 51.21+51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств бифеназата и D 3598 в воде, почве, яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.—28 с.

ISBN 978—5—7508—1237—0

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, Е. В. Довгилевич, А. В. Довгилевич, Н. В. Устименко).

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 30 мая 2013 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 8 августа 2013 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

Редактор Н. В. Кожока
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 23.01.14

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,75
Тираж 200 экз. Заказ 5

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
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 8(495)952-50-89

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

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
8 августа 2013 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств бифеназата и D 3598 в воде, почве, яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3100—13

Свидетельство о метрологической аттестации от 4.10.2012 № 01.00282-2008/0133.04.10.12.

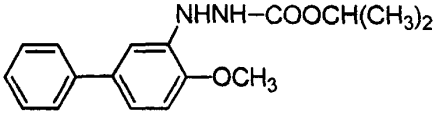
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовых концентраций бифеназата и D 3598 в воде в диапазоне 0,005—0,05 мг/дм^3 и в почве в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг, а также уровня их остаточных количеств в яблоках и яблочном соке в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: бифеназат.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Изопропил 3-(4-метоксибифенил-3-ил)карбазат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{20}N_2O_3$.

Молекулярная масса: 300,4.

Агрегатное состояние: кристаллическое вещество.

Цвет, запах: белый, без запаха.

Давление паров: 1×10^{-2} мРа (25 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: $\log K_{ow} = 3,4$ (25 °С, pH 7).

Температура плавления: 123—125 °С.

Растворимость в воде (мг/дм^3, при 20 °С): 2,06.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С): этилацетат – 102; ацетонитрил – 95,6; метанол – 44,7; толуол – 24,0; н-гексан – 0,232.

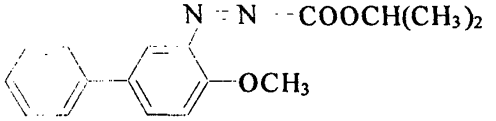
Бифеназат стабилен не более 1 года при температуре 20 °С и относительной влажности 50 %.

Подвергается гидролизу (при 25 °С): DT_{50} составляет 9—10 дней (pH 4); 5,4 дня (pH 5); 0,8 дня (pH 7), 0,08 дня (pH 9) и фотолизу (25 °С, pH 5): DT_{50} составляет 17 ч.

Бифеназат – основание с pKa – 12,94 (23 °С).

Основной метаболит бифеназата – D 3598.

N-(4-метоксибифенил-3-ил)диазенкарбоновой кислоты изопропиловый эфир.



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{18}N_2O_3$.

Молекулярная масса: 298,3.

Другие физико-химические свойства D 3598 не представлены.

Краткая токсикологическая характеристика. Бифеназат относится к мало опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс составляет более 5 000 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для крыс составляет более 2 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) – более 4 400 мг/м^3 воздуха). Вызывает слабое покраснение кожи и глаз у кроликов, раздражает кожу и слизистую оболочку глаз. Не является мутагеном. Не обладает тератогенной активностью для крыс и кроликов, не является канцерогеном для крыс и мышей.

Область применения. Бифеназат – несистемный акарицид с контактным действием и продолжительным последействием, рекомендуется к применению для борьбы с насекомыми на стадии яиц и личинок на

плодовых деревьях (яблони, груши, цитрусовые), орехах, овощах, декоративных культурах, хлопке и кукурузе.

В России для бифеназата установлены следующие гигиенические нормативы: ВДСД – 0,01 мг/кг массы человека; ВМДУ для импортной продукции (мг/кг): хлопок (семена) – 0,3; изюм, перец сладкий, плодовые косточковые, клубника – 2,0; овощи со съедобными плодами, тыквенные, томат – 0,5; виноград, плодовые семечковые – 0,7; хмель сухой – 20,0; перец Чили – 3,0; орехи – 0,2; мясо млекопитающих (кроме морских), молочный жир – 0,05; молоко, птица (мясо, субпродукты) – 0,01; мята – 40,0; яйца, субпродукты (млекопитающих) – 0,001; миндаль в шелухе – 10,0.

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 и 2 для соответствующих диапазонов концентраций.

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 3 и 4.

Таблица 1

Метрологические параметры для бифеназата

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм^3)	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, %, $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %	Норматив оперативного контроля точности, K, мг/кг (мг/дм^3) ($P = 0,95$, $m = 2$)
Вода	0,005—0,01 вкл.	40	2,36	6,56	9,19	$0,47 \cdot X^*$
	0,01—0,05 вкл.	30	1,50	4,17	5,84	$0,36 \cdot X^*$
Почва	0,01—0,1 вкл.	50	1,53	4,25	5,96	$0,59 \cdot X^*$
Яблоки	0,01—0,1 вкл.	50	4,26	11,84	16,58	$0,59 \cdot X^*$
Яблочный сок	0,01—0,1 вкл.	50	2,19	6,09	8,52	$0,59 \cdot X^*$

* X – среднее значение массовой концентрации бифеназата в пробе (мг/дм^3, мг/кг)

Таблица 2

Метрологические параметры для D 3598 (в виде бифеназата)

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм^3)	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, %, $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %	Норматив оперативного контроля точности, K, мг/кг (мг/дм^3) ($P = 0,95$, $m = 2$)
Вода	0,005—0,01 вкл.	40	1,48	4,11	5,76	$0,47 \cdot X^*$
	0,01—0,05 вкл.	30	0,94	2,61	3,66	$0,36 \cdot X^*$
Почва	0,01—0,1 вкл.	50	1,97	5,48	7,67	$0,59 \cdot X^*$
Яблоки	0,01—0,1 вкл.	50	1,65	4,59	6,42	$0,59 \cdot X^*$
Яблочный сок	0,01—0,1 вкл.	50	2,35	6,53	9,15	$0,59 \cdot X^*$

* X – среднее значение массовой концентрации D 3598 (в виде бифеназата) в пробе (мг/дм^3, мг/кг)

Таблица 3

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

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/кг (мг/дм^3)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,005	0,005—0,05	89,49	2,18	0,91
Почва	0,01	0,01—0,1	74,75	2,14	0,75
Яблоки	0,01	0,01—0,1	81,94	3,99	1,53
Яблочный сок	0,01	0,01—0,1	85,91	1,99	0,80

Таблица 4

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для D 3598 (в виде бифеназата)

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 ±, %
Вода	0,005	0,005—0,05	90,88	1,90	0.81
Почва	0,01	0,01—0,1	73,75	1,99	0.69
Яблоки	0,01	0,01—0,1	84,89	1,98	0.79
Яблочный сок	0,01	0,01—0,1	85,82	1,74	0.70

2. Метод измерений

Метод основан на определении бифеназата и D 3598 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на концентрирующих патронах № 1 и 2. D 3598 определяют в виде бифеназата после восстановления его аскорбиновой кислотой.

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 класса точности – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г — ГОСТ Р 53228—08

Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом

взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 100 $мм^3$ со шкалой деления 0,001 $см^3$ и погрешностью менее 1 % от номинального объема	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
pH-метр/милливольтметр с диапазоном измерения 0...14 pH; ± 1 999 мВ	
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу; – компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Бифеназат, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,8 %	
D 3598, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,95 %	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный	ТУ 51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцово-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81

Кислота аскорбиновая	ФС 42-2668—95
Кислота уксусная, ледяная	ГОСТ 61—75
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с гидрофобным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм с привитыми гексадецильными (С16) группами (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 1)	ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции со слабоосновным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм с привитыми аминогруппами (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 2)	ТУ 4215-002-05451931—94
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166-76.
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233-77.
Полиэтиленгликоль 400, CAS 25322-68-3	
Эфир диэтиловый	ФС 42-3643—98

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы.

Алонж прямой с отводом для вакуума (АО-14/23) для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока	

испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $м^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс., с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин	
Предколонка хроматографическая стальная, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С8	
Сито лабораторное с полотном из латуни или нержавеющей стали с размером ячеек 1 мм	ГОСТ 3826—82 и ГОСТ 6613—86
Стаканы стеклянные, термостойкие, объемом 50—500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие, диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ-6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм, с отверстиями пор 20 мкм	
Центрифуга MPW-350e с числом оборотов 4 000 об./мин и с набором полипропиленовых банок емкостью 200 $см^3$	
Шприц инъекционный многократного применения объемом 10 $см^3$	ГОСТ 22967—90

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 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 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—91.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;

• 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 № 1 и 2 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах № 1 и 2, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 ч. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцово-кислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 ч.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. *Приготовление 1 %-го раствора полиэтиленгликоля.*

Мерной пипеткой отбирают 1 см^3 полиэтиленгликоля и переносят в мерную колбу на 100 см^3, добавляют 50 см^3 ацетонитрила. Раствор перемешивают и доводят ацетонитрилом объем в колбе до метки.

7.2.1.2. *Приготовление 2 %-го раствора сульфата натрия.*

В мерную колбу на 1 000 см^3 переносят 20 г безводного сульфата натрия, добавляют 200—300 см^3 дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки.

7.2.1.3. *Приготовление 10 %-го раствора аскорбиновой кислоты.*

В мерную колбу объемом 10 см^3 помещают 5 см^3 дистиллированной воды, прибавляют 1 г аскорбиновой кислоты, перемешивают до полного растворения и доводят водой объем в колбе до метки. Раствор готовят непосредственно перед применением.

7.2.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил, очищенную воду и ледяную уксусную кислоту.

В плоскодонную колбу объемом 1 000 см^3 помещают 600 см^3 ацетонитрила, 400 см^3 очищенной воды и 5 см^3 ледяной уксусной кислоты. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный

гелий со скоростью 20 см^3/мин в течение 5 мин, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 мин.

7.2.3. Приготовление смеси для растворения проб

В плоскодонную колбу объемом 100 см^3 помещают 0,1 г аскорбиновой кислоты и 100 см^3 подвижной фазы. Смесь тщательно перемешивают. Хранят в холодильнике не более 7 суток и используют для растворения проб и приготовления градуировочных растворов.

7.2.4. Приготовление градуировочных растворов

7.2.4.1. *Приготовление градуировочных растворов бифеназата.*

7.2.4.1.1. *Стандартный раствор № 1 с концентрацией бифеназата 100,0 мкг/см^3.* Взвешивают 10 мг бифеназата в мерной колбе объемом 100 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.4.1.2. *Стандартный раствор № 2 с концентрацией бифеназата 10,0 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.4.1.3. *Стандартный раствор № 3 с концентрацией бифеназата 1,0 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.4.1.4. *Стандартный раствор № 4 с концентрацией бифеназата 0,5 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 4 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.4.1.5. *Стандартный раствор № 5 с концентрацией бифеназата 0,2 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки

смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 5 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.4.1.6. *Стандартный раствор № 6 с концентрацией бифеназата 0,1 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 6 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.4.1.7. *Стандартные растворы бифеназата с концентрацией 2,0; 1,0; 0,4 и 0,2 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы.* Методом последовательного разведения ацетонитрилом стандартного раствора № 2 готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,4 и 0,2 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы. Стандартные растворы в ацетонитриле хранят не более 1 месяца.

7.2.4.2. *Приготовление градуировочных растворов D 3598.*

Определяют D 3598 после восстановления его до бифеназата аскорбиновой кислотой.

7.2.4.2.1. *Стандартный раствор № 7 с концентрацией D 3598 100,0 мкг/см^3.* Взвешивают 10 мг D 3598 в мерной колбе объемом 100 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 7 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 7 хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.4.2.2. *Стандартный раствор № 8 с концентрацией D 3598 10,0 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 7 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом. Стандартный раствор № 7 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 7 хранится в холодильнике не более 14 дней.

7.2.4.2.3. *Стандартный раствор № 9 с концентрацией D 3598 1,0 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 8 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 50 см^3 и доводят объем до метки смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 9 используется для приготовления стандартных растворов для установления градуировочной характеристики. Стандартный раствор № 9 хранится в холодильнике не более 7 дней.

Стандартный раствор № 9 после приготовления выдерживают при комнатной температуре не менее 3 ч и по истечении этого времени используют его для приготовления градуировочных стандартов № 10, 11 и 12.

7.2.4.2.4. *Стандартный раствор № 10 с концентрацией D 3598 0,5 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 9 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 10 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.4.2.5. *Стандартный раствор № 11 с концентрацией D 3598 0,2 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 9 отбирают пипеткой 2 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 11 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.4.2.6. *Стандартный раствор № 12 с концентрацией D 3598 0,1 мкг/см^3.* Из стандартного раствора № 9 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки смесью для растворения проб (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 12 используется для установления градуировочной характеристики и хранится в холодильнике не более 7 дней.

7.2.4.2.7. *Стандартные растворы D 3598 с концентрацией 2,0; 1,0; 0,4 и 0,2 мкг/см^3 для внесения в контрольные образцы.* Методом последовательного разведения ацетонитрилом стандартного раствора № 8 готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,4 и 0,2 мкг/см^3 и используют эти растворы для внесения в контрольные образцы. Стандартные растворы в ацетонитриле хранят не более 1 месяца.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации бифеназата и D 3598 (в виде бифеназата) в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 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. 9.5. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка концентрирующего патрона № 2 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения бифеназата на нем

7.4.1. Подготовка концентрирующего патрона № 2 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин (1—2 кап./с).

Патрон № 2 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения бифеназата на концентрирующем патроне № 2

Из стандартного раствора бифеназата в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 100 $см^3$, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 $см^3$ гексана, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля, упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор обмывают последовательно двумя порциями по 10 $см^3$ каждая смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие бифеназат, полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения бифеназата на концентрирующих патронах № 2 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

7.5. Подготовка концентрирующего патрона № 1 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения бифеназата на нем

7.5.1. Подготовка концентрирующего патрона № 1 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин (1—2 кап./с).

Патрон № 1 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 9 : 1. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения бифеназата на концентрирующем патроне № 1

Из стандартного раствора бифеназата в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 100 $см^3$, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 $см^3$ воды, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор обмывают последовательно 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 4, 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 2 и 15 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом 100 $см^3$, прибавляют в каждый концентратор по 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие бифеназат, полноту смывания с патрона и необходимый объём элюента.

Изучение поведения бифеназата на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

7.6. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку с предколонкой устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1 $см^3$/мин 3—4 ч.

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 17.4.3.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб», ГОСТ 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки. Технические условия», ГОСТ Р 52184—2003 «Соки плодовые и ягодные натуральные».

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

Для длительного хранения проб почвы, почву подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в темной таре в течение года. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

Пробы яблок хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре от 0 до 4 °С не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С до 2 лет. Перед анализом яблоки размораживают и измельчают на терке.

Пробы яблочного сока хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 5 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

9.1.1. Экстракция

Пробу воды объемом 100 $см^3$ помещают в делительную воронку объемом 250 $см^3$, прибавляют 5 г хлористого натрия, 1 $см^3$ свежеприготовленного 10 %-го водного раствора аскорбиновой кислоты и перемешивают до полного растворения соли. Бифеназат и D 3598 экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира объемом по 30 $см^3$, встряхивая каждый раз делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (диэтиловый эфир) собирают в концентраторе объемом 250 $см^3$, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля и объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Для определения D 3598: сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3), выдерживают 3 ч при комнатной температуре для прохождения реакции восстановления D 3598 до бифеназата аскорбиновой кислотой, затем 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.2. Почва

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Пробу почвы весом 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 200 $см^3$, прибавляют 10 $см^3$ 2 %-го раствора сульфата натрия, 1 $см^3$ свежеприготовленного 10 %-го водного раствора аскорбиновой кислоты, 75 $см^3$ ацетонитрила, помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну, а затем на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Затем пробу центрифугируют в течение 4 мин на скорости 4 000 об./мин. Супернатант фильтруют через фильтр средней плотности в коническую колбу объемом 250 $см^3$ с 10 г сухого хлористого натрия. Экстракцию повторяют еще один раз, используя 75 $см^3$ ацетонитрила и помещая на 5 мин в ультразвуковую ванну, а затем на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Пробы центрифугируют, фильтруют, экстракты объединяют в конической колбе объемом 250 $см^3$ с 10 г сухого хлористого натрия, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 10 мин.

Объединенный экстракт из колбы переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ (не растворившуюся соль оставляют в колбе), оставляют до полного разделения слоев и нижний (водный) слой отбрасывают.

К ацетонитрильному экстракту в делительной воронке прибавляют 50 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают 2 мин. После полного разделения фаз отбрасывают выделившийся нижний водный слой, ацетонитрильный экстракт собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 $см^3$, осушитель обмывают 10 $см^3$ ацетонитрила, смыв объединяют с основным экстрактом, прибавляют 2 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля и объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Верхний гексановый слой отбрасывают.

9.2.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Для определения бифеназата: к остатку в концентраторе, полученному по п. 9.2.1, прибавляют 3 $см^3$ ацетонитрила, обмывают стенки колбы, прибавляют туда же 50 $см^3$ 2 %-го раствора сульфата натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$.

Для определения D 3598 (либо суммарного содержания бифеназата и D 3598): к остатку в концентраторе, полученному по п. 9.2.1, прибавляют 5 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и оставляют при комнатной температуре на 3 ч для прохождения реакции восстановления D 3598 до бифеназата аскорбиновой кислотой. После прохождения реакции в концентратор прибавляют 50 $см^3$ 2 %-го раствора сульфата натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$.

Бифеназат экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира объемом по 20 $см^3$, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке верхний слой (диэтиловый эфир) собирают в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля и объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.2.3. Очистка экстракта на концентрирующих патронах№ 2

Сухой остаток, полученный по п. 9.2.2, растворяют в 2 $см^3$ ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 $см^3$ гексана, перемешивают и вносят на подготовленный патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$. Исходный концентратор обмывают 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1 , вносят на патрон, элюат объединяют, прибавляют 1 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликo-

ля и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.2.4. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1

Сухой остаток, полученный по п. 9.2.3, растворяют в 1 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 9 см^3 воды, перемешивают и вносят на подготовленный патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают последовательно 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 4 и 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 2, элюаты отбрасывают. Бифеназат элюируют с патрона 15 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 1. К элюату прибавляют 1 см^3 1 %-го раствора полиэтиленгликоля, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.3. Плоды яблок

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных яблок массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции и центрифугирования объемом 250 см^3, прибавляют 100 см^3 ацетонитрила и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну, а затем на 5 мин на аппарат для встряхивания проб. Ацетонитрильный экстракт фильтруют в плоскодонную колбу объемом 250 см^3 с 10 г сухого хлористого натрия, прибавляют туда 1 см^3 свежеприготовленного 10 %-го водного раствора аскорбиновой кислоты и выдерживают при комнатной температуре 10 мин. Экстракт из колбы переносят в делительную воронку объемом 250 см^3 (не растворившуюся соль оставляют в колбе), оставляют до полного разделения слоев и нижний (водный) слой отбрасывают.

К ацетонитрильному экстракту в делительной воронке прибавляют 50 см^3 гексана и интенсивно встряхивают 2 мин. После полного разделения фаз отбрасывают выделившийся нижний водный слой. Ацетонитрильный экстракт собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 см^3, осушитель обмывают 10 см^3 ацетонитрила, смыв объединяют с основным экстрактом, прибавляют 2 см^3 1 %-го раствора полиэтиленгликоля и объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Верхний гексановый слой отбрасывают.

Далее проводят очистку экстракта как указано в п. 9.2.2 *Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей* и п. 9.2.3 *Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 2.*

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.4. Яблочный сок

9.4.1. Экстракция

Образец яблочного сока массой 20 г помещают в делительную воронку объемом 250 $см^3$, прибавляют туда 20 $см^3$ 2 %-го раствора сульфата натрия, 1 $см^3$ свежеприготовленного 10 %-го водного раствора аскорбиновой кислоты, 100 $см^3$ ацетонитрила и интенсивно встряхивают воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой отбрасывают, ацетонитрильный экстракт переносят в плоскодонную колбу объемом 250 $см^3$ с 10 г сухого хлористого натрия и выдерживают при комнатной температуре 10 мин. Экстракт из колбы переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ (не растворившуюся соль оставляют в колбе), оставляют до полного разделения слоев и нижний (водный) слой отбрасывают.

К ацетонитрильному экстракту в делительной воронке прибавляют 50 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают 2 мин. После полного разделения фаз отбрасывают выделившийся нижний водный слой. Ацетонитрильный экстракт собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 $см^3$, осушитель обмывают 10 $см^3$ ацетонитрила, смыв объединяют с основным экстрактом, прибавляют 2 $см^3$ 1 %-го раствора полиэтиленгликоля и объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Верхний гексановый слой отбрасывают.

Далее проводят очистку экстракта как указано в п. 9.2.2 *Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей* и п. 9.2.3 *Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 2.*

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.5. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, с ультрафиолетовым детекто-

ром с изменяемой длиной волны и чувствитель-ностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкал;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Предколонка хроматографическая стальная, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С8.

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода–ледяная уксусная кислота в соотношении 600 : 400 : 5.

Длина волны: 270 нм.

Объем вводимой пробы 20 мм^3.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

10. Обработка результатов

Содержание бифеназата или D 3598 (в виде бифеназата) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P \text{, где}$$

X – содержание бифеназата или D 3598 в пробе, мг/кг или мг/дм^3;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{пр}$ – 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 бифеназата или D 3598 в аналитическом стандарте, %.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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;

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

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

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

«*содержание вещества в пробе менее 0,01 мг/кг*»*.

* – 0,01 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики 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.*

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для бифеназата или D 3598 проводят при смене основных градуировочных растворов № 1, 2, 7 и 8 каждые 14 суток, при смене основных градуировочных растворов № 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11 и 12 – каждые 7 суток, а также в начале и при окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание бифеназата или D 3598 в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,1 до 1,0 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \leq 2{,}24$$ для бифеназата, 3,29 для D 3598, где

X – концентрация бифеназата или D 3598 контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора бифеназата или D 3598 в смеси для растворения проб (п. 7.2.3), взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

2,24 или 3,29 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 2,24 % (или 3,29 %), 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 бифеназата или D 3598, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

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;

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

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):

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

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

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

Приложение 1

Полнота извлечения бифеназата из воды, почвы, яблок и яблочного сока
(5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено бифеназата, мг/кг (мг/дм^3)	Обнаружено бифеназата, мг/кг (мг/дм^3)	Полнота определения, %
Вода	0,005	0,0044 ± 0,0001	88.6
	0,010	0,0090 ± 0,0002	89,6
	0,020	0,0183 ± 0,0003	91,6
	0,050	0,0441 ± 0,0004	88,2
Почва	0,01	0,0075 ± 0,0001	75.3
	0,02	0,0147 ± 0,0002	73.5
	0,05	0,0368 ± 0,0007	73.6
	0,10	0,0767 ± 0,0015	76.7
Яблоки	0,01	0,0083 ± 0,0004	83.0
	0,02	0,0167 ± 0.0007	83.7
	0,05	0,0407 ± 0,0020	81.3
	0,10	0,0798 ± 0,0036	79.8
Яблочный сок	0,01	0,0087 ± 0,0001	87.2
	0,02	0,0174 ± 0.0003	86.8
	0,05	0,0424 ± 0,0012	84.9
	0,10	0,0848 ± 0,0023	84.8

Приложение 1

Полнота извлечения D 3598 из воды, почвы, яблок и яблочного сока
(5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено D 3598, мг/кг (мг/дм^3)	Обнаружено D 3598, мг/кг (мг/дм^3)	Полнота определения, %
Вода	0,005	0,0046 ± 0,0001	91,0
	0,010	0,00890 ± 0,0001	88,6
	0,020	0,0183 ± 0,0002	91,6
	0,050	0,0462 ± 0,0005	92,3
Почва	0,01	0,0075 ± 0,0001	75,2
	0,02	0,0148 ± 0,0003	73,9
	0,05	0,0363 ± 0,0009	72,6
	0,10	0,0805 ± 0,0013	80,5
Яблоки	0,01	0,0086 ± 0,0001	85,9
	0,02	0,0173 ± 0,0003	86,3
	0,05	0,0424 ± 0,0007	84,2
	0,10	0,0831 ± 0,0017	83,1
Яблочный сок	0,01	0,0085 ± 0,0001	84,8
	0,02	0,0172 ± 0,0003	86,2
	0,05	0,0426 ± 0,0007	85,3
	0,10	0,0870 ± 0,0025	87,0

gost.e-ecolog.ru