Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентраций действующих веществ пестицидов в воде, почве, зелёной массе, зерне и соломе зерновых культур, ботве и корнеплодах свеклы

**Сборник методических указаний
по методам контроля
МУК 4.1.3021—12; 4.1.3043—12**

Издание официальное

Москва • 2013

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентраций действующих веществ пестицидов в воде, почве, зелёной массе, зерне и соломе зерновых культур, ботве и корнеплодах свеклы

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.3021—12; 4.1.3043—12

ББК 51.21+51.23
И37

И37 **Измерение** концентраций действующих веществ пестицидов в воде, почве, зелёной массе, зерне и соломе зерновых культур, ботве и корнеплодах свеклы: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—28 с.

ISBN 978—5—7508—1174—8

1. Разработаны сотрудниками ГНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» Россельхозакадемии.
2. Введены в действие с момента утверждения.
3. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

Редактор Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 01.02.13

Формат 60x88/16 Печ. л. 1.75

Тираж 200 экз. Заказ 9

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 (495)952-50-89

© Роспотребнадзор, 2013
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013

Содержание

Измерение концентраций флуксапироксада в воде, почве, зелёной массе, зерне и соломе зерновых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3021—12 4

Измерение массовой концентрации пропизахлора в ботве и корнеплодах свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.3043—12 18

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
3 июля 2012 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентраций флуксапироксада в воде, почве, зелёной массе, зерне и соломе зерновых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3021—12

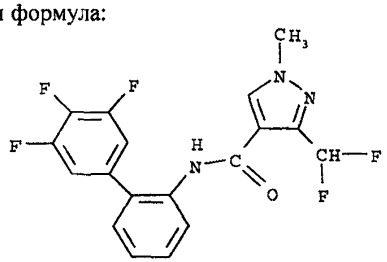
Свидетельство о метрологической аттестации от 11.10.2011 № 01.5.04.035/01.00043/2011.

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации флуксапироксада в воде – в диапазоне концентраций 0,001—0,005 мг/дм^3, в почве и зерне – в диапазоне концентраций 0,005—0,05 мг/кг, в зеленой массе – 0,02—0,1 мг/кг, соломе – 0,05—0,25 мг/кг.

Название действующего вещества по номенклатуре ICO: флуксапироксад.

Название действующего вещества по номенклатуре IUPAC: (±)3-(дифторметил)-1-метил-N(3′,4′,5′-трифтор[1,1′-бифенил]-2-ил)-1H-пиразол-4-карбоксамид.

Структурная формула:



Брутто формула: $C_{18}H_{12}F_5N_3O$.

Молекулярная масса: 381.

Химически чистое вещество представляет собой кристаллический порошок бежевого цвета без запаха.

Температура плавления: > 157 °С.

Давление пара $1{,}1 \cdot 10^{-7}$ мРа.

Коэффициент распределения в системе н-октанол–вода K_{ow} lgP > 3,0 (20 °С).

Растворимость в воде (мг/дм^3, 20 °С): 3,88.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, 20 °С): ацетон – > 250; ацетонитрил, дихлорметан, этилацетат – > 100; метанол – 53,4; толуол – 20,0.

Гидролитически стабилен в водных растворах при pH 4—9.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная – $ЛД_{50}$ > 2 000 мг/кг массы тела. Острая кожная – $ЛД_{50}$ > 2 000 мг/кг массы тела. Острая ингаляционная – $ЛК_{50}$ (4 ч) > 5,1 мг/л. Раздражающее действие – кролики: кожа – не раздражает; глаза – не раздражает.

Сенсибилизация – не обладает.

Область применения

Фунгицид для обработки вегетирующих растений против комплекса болезней зерновых культур.

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 (мг/дм^3)	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{R,л}$, %	Показатель воспроизводимости, σ_R, %	Показатель точности* (границы относительной погрешности), ± δ, %
Вода	0,001—0,005	5	7	9	17
Почва	0,005—0,05	7	9	12	23
Зерно	0,005—0,05	7	9	12	23
Зеленая масса	0,02—0,1	6	7	10	20
Солома	0,05—0,1 0,1—0,25	7 6	10 8	12 10	22 18

* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$

Таблица 2

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

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг (мг/дм^3)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм^3)	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, ± %
Вода	0,001	0.001—0,005	95,9	2,3	1,1
Почва	0,005	0,005—0,05	87,2	7,3	3,6
Зерно	0,005	0.005—0,05	86,8	7,3	3,6
Зеленая масса	0,02	0.02—0,1	88,5	9,4	4,4
Солома	0.05	0,05—0,25	82,1	9,9	4,7

2. Метод измерений

Методика основана на: определении флуксапироксада методом ВЭЖХ с использованием УФ-детектора после его твердофазной экстракции из воды или жидкостной экстракции из образцов почвы, зеленой массы и соломы ацетонитрилом в присутствии ацетатного буфера, насыщенного сульфатом магния, и обеспечивающего разделение водной и органической фаз; очистке ацетонитрильного экстракта с помощью дисперсионной твердофазной экстракции при одновременном удалении воды безводным сульфатом магния. При анализе зерна используют «Набор для пробоподготовки по методу QuEChERS Interlab VetexQ для обычных овощей, фруктов и зерна (кат. № IL-5056)» с дополнительной очисткой на патронах с силикагелем.

Идентификация флуксапироксада 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 «ACQUITY» фирмы «Waters» с быстросканирующим УФ-детектором, снабженном дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	Номер в Госреестре средств измерений 42816—09
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—2001
Весы технические ВЛКТ-500	ГОСТ 24104—2001

Колбы мерные на 10, 25, 50, 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микродозаторы одноканальные «BIOHIT» переменного объема от 200 до 1 000 $мм^3$ и от 1 до 5 $см^3$, Финляндия	Номер в Госреестре средств измерений 36152—07
Пипетки градуированные	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные на 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 23932—90

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

3.2. Реактивы

Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил для ВЭЖХ, «В-230НМ» или хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная. деионизованная)	ГОСТ Р 52501—2005
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375—78
Кислота ортофосфорная, хч	ГОСТ 6552—80
Кислота уксусная, ледяная	ГОСТ 61—69
Магний серно-кислый безводный, хч	ГОСТ 4523—67
Набор для пробоподготовки по методу QuEChERS Interlab VetexQ для обычных овощей, фруктов и зерна (кат. № IL-5056)	
Натрий уксусно-кислый, ч	ГОСТ 199—68
Силикагель, Merck 1.09385.1000	
Смесь № 1: этилацетат–гексан в соотношении 1 : 4 по объему	
Смесь № 2: этилацетат–гексан в соотношении 1 : 1 по объему	
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрила и 0,005 М H_3PO_4 в соотношении 50 : 50	
Уголь активированный БАУ-А	ГОСТ 6217-4—74
Флуксапироксад с содержанием основного вещества 99,7 % (BAS 700 F)	
Этилацетат, хч	ГОСТ 1138—84

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

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка ACQUITY UPLC BEH C18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм (Waters)

Аналитическая колонка ACQUITY UPLC Shield RP18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм (Waters)	
Аппарат для встряхивания и Multi Reax (фирмы Heidolph, Германия)	ТУ 64-1-1081—73
Воронки лабораторные В-75-110	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Патроны Диапак С16 (БиоХимМак СТ), 0,4 г (номер по каталогу 21.0040)	
Патроны Диапак С (БиоХимМак СТ), 0,4 г (номер по каталогу 22.0300)	
Пробирки полипропиленые центрифужные с крышками объемом 15 и 50 $см^3$	
Ротационный вакуумный испаритель фирмы BÜCHI, мод. R 205 (Швейцария)	
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6.091678—86
Центрифуга ОПн-8УХЛ4.2	ТУ 5.375-4261—76
или 5804R (фирмы Eppendorf AG, Германия)	
Шприц медицинский с разъемом Льюера	ГОСТ 22090

Примечание. Допускается применение оборудования иных производителей 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—2009, 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 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 высокоэффек-

тивной 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 колонку (Acquity BEH C18 и Acquity Shield RP18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,1—0,2 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. Раствор 0,005 М 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.

7.2.2. Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с 0,005 М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50 по объёму, используя мерные цилиндры.

7.2.3. Приготовление элюента № 1: в колбе на 100 $см^3$ смешивают 80 $см^3$ н-гексана и 20 $см^3$ этилацетата, используя мерные цилиндры.

7.2.4. Приготовление элюента № 2: в колбе на 100 $см^3$ смешивают 50 $см^3$ н-гексана и 50 $см^3$ этилацетата, используя мерные цилиндры.

7.3. Приготовление основного и градуировочных растворов

7.3.1. Основной раствор с концентрацией 0,5 мг/$см^3$: точную навеску флуксапироксада (50 ± 0,5) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.3.2. *Приготовление градуировочных растворов (анализ на колонке Acquity BEH C18).*

Градуировочные растворы с концентрациями флуксапироксада 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 и 0,1 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного

разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50).

7.3.2.1. Раствор № 1 с концентрацией 0,1 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 1 см^3 основного раствора и доводят до метки подвижной фазой (5 мкг/см^3). В другую мерную колбу вместимостью 100 см^3 переносят 2,0 см^3 полученного раствора. Объем вновь доводят до метки подвижной фазой (0,1 мкг/см^3).

7.3.2.2. Раствор № 2 с концентрацией 0,08 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 8,0 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.2.3. Раствор № 3 с концентрацией 0,06 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 6 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.2.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,04 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 4 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.2.5. Раствор № 5 с концентрацией 0,02 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2 см^3 раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.3. Приготовление градуировочных растворов (анализ на колонке Acquity Shield RP18).

Градуировочные растворы с концентрациями флуксапироксада 0,01, 0,02, 0,05, 0,1 и 0,2 мкг/см^3 готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50).

7.3.3.1. Раствор № 1 с концентрацией 5,0 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 1 см^3 основного раствора и доводят до метки подвижной фазой.

7.3.3.2. Раствор № 2 с концентрацией 0,2 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 4,0 см^3 раствора № 1 и доводят до метки подвижной фазой.

7.3.3.3. Раствор № 3 с концентрацией 0,1 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 2,0 см^3 раствора № 1 и доводят до метки подвижной фазой.

7.3.3.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,05 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5 см^3 раствора № 3 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.3.5. Раствор № 5 с концентрацией 0,02 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2 см^3 раствора № 3 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.3.6. Раствор № 6 с концентрацией 0,01 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1 см^3 раствора № 3 и доводят объем до метки подвижной фазой.

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

При изучении полноты определения флуксапироксада в воде, почве, зерне, зеленой массе и соломе зерновых культур используют ацетонитрильные растворы вещества, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

7.4. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация флуксапироксада в растворе) в хроматограф вводят по 10 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 флуксапироксада в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент (K) в уравнении линейной регрессии:

$$C = KS, \text{ где}$$

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:

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

C – аттестованное значение массовой концентрации флуксапироксада в градуировочном растворе;

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

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

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» (от 21.08.79 № 2051—79), а также в соответствии с ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб»; ГОСТ Р 50436—92 (ИСО 950—79) «Зерновые. Отбор проб зерна»; ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб». Пробы зерна и соломы для определения остатков в урожае хранят в бумажной или тканевой упаковке при комнатной температуре. 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 доводят до стандартной влажности, просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, зерно и солому измельчают на лабораторных мельницах.

9. Проведение определения

9.1. Определение флуксапироксада в воде

Через патрон Диапак С16 пропускают 50 $см^3$ воды. Фильтрат отбрасывают. Флуксапироксад элюируют 3 $см^3$ ацетона. Элюат упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 2,5 $см^3$ подвижной фазы. 10 $мм^3$ полученного раствора вводят в хроматограф.

9.2. Определение флуксапироксада в зеленой массе и соломе зерновых культур

В полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 $см^3$ помещают 10 г измельченной зеленой массы или 4 г соломы, прибавляют 10 $см^3$ воды, 10 $см^3$ ацетонитрила, 0,1 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, 4 г безводного магния серно-кислого и 1 г натрия уксусно-кислого. Пробирку плотно закрывают пробкой, встряхивают на аппарате в течение 15 мин и центрифугируют при скорости 8 000 об./мин в течение 10 мин. Супернатант декантируют и количественно переносят в другую тефлоновую центрифужную пробирку. Если супернатант декантировать не удается, то массу фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр «красная лента». Измеряют объем супернатанта или фильтрата и прибавляют к нему силикагель и безводный магний серно-кислый из расчета 50 мг силикагеля, 150 мг магния серно-кислого на 1 $см^3$ супернатанта. При работе с образцами зеленой массы или соломы к суперна-

танту также прибавляют активированный уголь из расчета 7,5 мг на 1 $см^3$ супернатанта. Пробирку плотно закрывают пробкой, встряхивают на аппарате 15 мин и центрифугируют при скорости 8 000 об./мин в течение 10 мин. Количественно отбирают с помощью шприца верхний ацетонитрильный слой, переносят его в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ и доводят объем до метки водой. 10 $мм^3$ полученного раствора вводят в хроматограф.

9.3. Определение флуксапироксада в почве

В полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 $см^3$ помещают 10 г просеянной почвы, прибавляют 3 $см^3$ воды для смачивания пробы, через 2 мин прибавляют 10 $см^3$ воды, 10 $см^3$ ацетонитрила, 0,1 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, 4 г безводного магния серно-кислого и 1 г натрия уксусно-кислого. Пробирку плотно закрывают крышкой, встряхивают на аппарате в течение 15 мин и центрифугируют при скорости 4 000 об./мин в течение 10 мин. Отбирают 5 $см^3$ верхнего ацетонитрильного слоя и переносят его в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 15 $см^3$, содержащую 250 мг силикагеля и 750 мг безводного магния серно-кислого. Пробирку плотно закрывают крышкой, встряхивают на аппарате 10 мин и центрифугируют при скорости 4 000 об./мин в течение 10 мин. Аликвоту 2 $см^3$ переносят в круглодонную колбу и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, остаток очищают на патроне Диапак С.

9.4. Определение флуксапироксада в зерне

В полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 $см^3$ помещают 10 г измельченного зерна, добавляют 15 $см^3$ воды, 10 $см^3$ ацетонитрила и содержимое влагонепроницаемого пакета из «Набора для пробоподготовки по методу QuEChERS Interlab VetexQ для обычных овощей, фруктов и зерна (кат. № IL-5056)». Пробирку плотно закрывают, встряхивают на аппарате в течение 15 мин, центрифугируют при скорости 4 000 об./мин в течение 10 мин. Отбирают 5 $см^3$ верхнего ацетонитрильного слоя и переносят в полипропиленовую центрифужную пробирку из набора вместимостью 15 $см^3$, содержащую сорбент. Пробирку плотно закрывают, встряхивают на аппарате в течение 15 мин, центрифугируют при скорости 4 000 об./мин в течение 10 мин. Аликвоту 2 $см^3$ переносят в круглодонную колбу и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, остаток очищают на патроне Диапак С.

9.5. Очистка на патроне Диапак С

9.5.1. Кондиционирование патрона Диапак С

Патрон с силикагелем Диапак С промывают 2 $см^3$ элюента № 2, затем 3 $см^3$ гексана.

9.5.2. Дополнительная очистка проб почвы и зерна на патронах Диапак С

Сухой остаток, полученный по пп. 9.4 или 9.5 растворяют в 1 $см^3$ гексана, наносят на предварительно кондиционированный патрон, колбу ополаскивают 1 $см^3$ гексана и так же наносят на патрон. Патрон промывают 6 $см^3$ элюента № 1, элюат отбрасывают. Флуксапироксад элюируют 3 $см^3$ смеси № 2, элюат собирают, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, остаток растворяют в 1 $см^3$ подвижной фазы и 10 $мм^3$ вводят в хроматограф.

9.6. Условия хроматографирования

9.6.1. Условия анализа проб воды, зеленой массы и соломы

Ультраэффективный жидкостный хроматограф «ACQUITY» фирмы Waters с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка ACQUITY UPLC BEH C18 (2,1 × 100) мм, 1,7 мкм (Waters). Температура колонки (30 ± 1) °С. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50. Скорость потока элюента: 0,2 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 230 нм. Объем вводимой пробы 10 $мм^3$. Время удерживания флуксапироксада (4,8 ± 0,1) мин.

9.6.2. Условия анализа проб почвы и зерна

Ультраэффективный жидкостный хроматограф «ACQUITY» фирмы Waters с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка ACQUITY SHIELD RP 18 (2,1 × 100) мм, 1,7 мкм (Waters). Температура колонки (30 ± 1) °С. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 50 : 50. Скорость потока элюента: 0,2 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 230 нм. Объем вводимой пробы 10 $мм^3$. Время удерживания флуксапироксада (5,0 ± 0,1) мин.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в интервале концентраций (0,01—0,2) мкг/$см^3$.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание флуксапироксада в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых (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 флуксапироксада 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 флуксапироксада, приведенная в табл. 2, %.

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

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор флуксапироксада с концентрацией 0,2 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предел 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 ($r = 2{,}8\sigma_r$).

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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 0,005 мг/кг*, где «*» – 0,005 мг/кг – предел обнаружения флуксапироксада в почве и зерне зерновых).

13. Контроль качества результатов измерений

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

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится 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:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \quad (2)$$

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 предел воспроизводимости (R):

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

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

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

14. Разработчики

Долженко В. И., Цибульская И. А., Журкович И. К., Черменская Т. Д., Комарова А. С. (ГНУ Всероссийский НИИ защиты растений Россельхозакадемии).

gost.e-ecolog.ru