Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пенцикурона в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2387—08

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пенцикурона в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2387—08

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пенцикурона в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—20 с.

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

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-гигиеническому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 1 от 3 апреля 2008 г.).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 2 июля 2008 г.

4. Вводятся в действие с 5 сентября 2008 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25

Тираж 200 экз.

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

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 952-50-89

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

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
2 июля 2008 г.
Дата введения: 5 сентября 2008 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

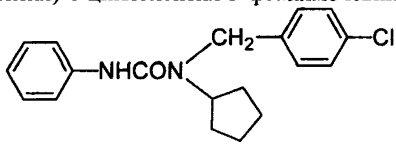
Определение остаточных количеств пенцикурона в воде, почве и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2387—08

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации Пенцикурона в диапазоне 0,005—0,05 мг/дм^3 в воде, 0,01—0,1 мг/кг в почве и клубнях картофеля.

Пенцикурон.

1-(4-хлоробензил)-1-циклопентил-3-фенилмочевина (ИЮПАК)



Эмпирическая формула: $C_{19}H_{21}ClN_2O$.

Молекулярная масса: 328,8.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: белого цвета, без запаха.

Давление насыщенного пара 5×10^{-7} Па м^3 моль$^{-1}$ (расчетное).

Температура плавления: 128 °С.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода при 20 °С: K_{ow} logP = 4,68 .

Растворимость в воде: 0,3 мг/дм^3 при 20°.

В воде гидролизуется: DT_{50} – 64—302 дня при 20°.

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3 при 20 °С): ацетон – 89,4, ацетонитрил – 24,9, гексан – 0,12, диметилсульфоксид – 152,9, хлористый метилен >250, этилацетат – 43,8 .

Пенцикурон слабо передвигается в почве, относительно стабилен, разлагается с образованием п-хлорбензиламина и п-хлорбензилформамида.

В растениях метаболизируется с образованием гидроксилированных метаболитов (частично в виде коньюгатов).

Из организма теплокровных более 74 % выводится с мочой и фекалиями в течение 3 дней в неизменном виде и в виде метаболитов. Основной путь разложения – гидроксилирование фенильной группы с образованием диольных и триольных производных, которые быстро выводятся в виде коньюгатов с сульфатами и глюкуроновой кислотой.

Краткая токсикологическая характеристика: Пенцикурон относится к веществам малоопасным по оральной ($ЛД_{50}$ для крыс – более 5 000 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов – более 2 000 мг/кг) токсичности, но к чрезвычайно опасным веществам по ингаляционной ($ЛК_{50}$ для крыс (4 часа) более >268 мг/м^3, аэрозоль) токсичности. Не вызывает покраснения кожи, слабо раздражает слизистую оболочку глаз. Не проявляет тератогенных и онкогенных свойств.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ПДК в воде – 0,15 мг/дм^3; ОДК в почве – 0,2 мг/кг; ВМДУ в клубнях картофеля – 0,1 мг/кг.

Область применения препарата

Пенцикурон – контактный фунгицид с длительным защитным действием. Рекомендуется для опрыскивания и опыливания растений, для обработки семян или внесения в почву. Применяется для подавления ризоктониоза и частично фитофтороза картофеля, пирикуляриоза риса, болезней всходов хлопка, овощей, сахарной свеклы, декоративных растений.

Пенцикурон используется также в качестве компонента смесевых препаратов с имидаклопридом, тирамом и тебуконазолом.

1. Метрологическая характеристика метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности

$P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

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

Таблица 1

Метрологические параметры метода

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Вода	0,005—0,010	100	4,0	11,2	13,4
	0,01—0,05	50	3,5	9,8	11,7
Почва	0,01—0,10	50	4,5	12,6	15,0
Клубни картофеля	0,01—0,10	50	3,3	9,2	10,95

Таблица 2

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

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	93,8	3,8	1,3
Почва	0,01	0,01—0,1	75,4	2,6	4,3
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,1	76,2	3,3	3,5

2. Метод измерений

Методика основана на определении Пенцикурона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции органическим растворителем, очистки перераспределением между двумя несмешивающимися фазами, на колонках с окисью алюминия и и на концентрирующих патронах на основе силикагеля (Диапак С, Диапак С15, Диапак ТА).

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

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

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические «OHAUS», Σ 11140	
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г «ACCULAB» V600.	
Колбы мерные на 25, 50 и 100 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50—100 $мм^3$	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 20292—74
Хроматограф жидкостной Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа, номер госрегистрации 15311-02.	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Пенцикурон, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,6 % (фирма Байер Кроп Сайенс)	
Алюминий оксид L 40/250, нейтральная для хроматографии, Lachema	
Ацетонитрил осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ 7602—72
Гексан, хч для спектроскопии	ТУ 6-09-06-657—84
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, хч	ГОСТ 4161—76
Магний сернокислый	ГОСТ 45233—77
Метилен хлористый	ГОСТ 19433—88

Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Натрия гидрокарбонат, хч	ГОСТ 2156—76
Фос(V)оксид	ТУ 6-09-41—73
Этиловый эфир уксусной кислоты, чда	ГОСТ 223000—76
Концентрирующие патроны Диапак С (0,6 г)	ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны Диапак С 16 (0,6 г)	ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны Диапак ТА (0,6 г)	ТУ 4215-002-05451931—94

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами Диапак С	
Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1»	
Банки с крышками для экстракции на 250 $см^3$, полипропилен, кат. № 3120-0250, NALGENE.	
Ванна ультразвуковая «UNITRA» UNIMA OLSZTYN UM-4	
Воронки химические для фильтрования, стеклянные	ГОСТ 8613—75
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 10054—75
Испаритель ротационный Rota vapor R110 Buchi с водяной баней	
Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 $см^3$, КПШ-100, КПШ-250	ГОСТ 10394—72
Колбы конические, плоскодонные объемом 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 9737—70
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма Уотерс	
Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 10394—75
Насос диафрагменный FT.19 фирмы KNF Neu Laboport	
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 18, длиной 20 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма Уотерс	
Стаканы стеклянные, объемом 100—500 $см^3$	ГОСТ 25366—80Е

Установка для перегонки растворителей
Фильтры бумажные «красная лента» ТУ-6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс

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

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

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

5. Требования к квалификации операторов

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

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

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концен-

трирующих патронов Диапак Амин для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на патронах, построение калибровочной кривой.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил перегоняют.

7.1.2. Очистка гексана

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

7.1.3. Очистка бидистиллированной воды

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

7.1.4. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают водным раствором карбоната натрия, водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют над оксидом(V) фосфора (А. Гордон, Р. Форд Спутник химика, Москва, 1976, с. 440).

7.1.5. Очистка этилового эфира уксусной кислоты

Этиловый эфир уксусной кислоты промывают равным объемом 5 % раствора соды, сушат над безводным хлористым кальцием (Беккер Г. и др. Органикум, Москва 1979, с. 372), кипятят в течение 1 ч с прокаленным сульфатом магния и затем перегоняют.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

В плоскодонную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 700 $см^3$ ацетонитрила и 300 $см^3$ очищенной воды. 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.

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Приготовление стандартного раствора с концентрацией Пенцикурона 1,0 мг/см^3.

Взвешивают 50 мг Пенцикурона в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.2.2.2. Приготовление стандартного раствора с концентрацией Пенцикурона 10,0 мкг/см^3.

Из стандартного раствора Пенцикурона с концентрацией 1,0 мг/см^3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании.

7.2.2.3. Приготовление стандартного раствора Пенцикурона с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см^3 для построения калибровочной кривой.

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

7.3. Построение калибровочной кривой

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

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.6. Измеряют площадь пиков, рассчитывают среднее значение площади пика для каждой концентрации и строят график зависимости площади пика от концентрации Пенцикурона. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений (рис. 1).

7.4. Подготовка колонки с окисью алюминия для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 5 г окиси алюминия с зернением 40/250 меш и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента высотой примерно 5 см. Непосредственно перед использованием колонку промывают 10 см^3 ацетонитрила.

7.4.1. Проверка хроматографического поведения Пенцикурона на колонке с окисью алюминия

В концентратор объемом 50 см^3 вносят 1 см^3 стандартного раствора Пенцикурона в ацетонитриле с концентрацией 1,0 мкг/см^3 и выпаривают

его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 10 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С. Исходную колбу обмывают еще двумя порциями ацетонитрила объемом 10 $см^3$ каждая и последовательно вносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие Пенцикурон, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

Изучение поведения Пенцикурона на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии окиси алюминия.

7.5. Подготовка концентрирующего патрона Диапак С для очистки экстрактов

7.5.1. Подготовка концентрирующего патрона Диапак С для очистки экстракта

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

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

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 $см^3$ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 1 : 1, затем 10 $см^3$ гексана. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения Пенцикурона на концентрирующем патроне Диапак С

Из стандартного раствора Пенцикурона в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$ отбирают 1 $см^3$, помещают в круглодонную колбу объемом 100 $см^3$ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ этилацетата, прибавляют 8 $см^3$ гексана, перемешивают и смыв вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 50 $см^3$, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Исходный концентратор обмывают последовательно двумя порциями смеси гексана с этилацетатом в соотношении 4 : 1 объемом по 10 $см^3$,

обмывают стенки концентратора и полученные растворы последовательно вносят на патрон. Элюаты после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 50 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Пенцикурон, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

7.6. Подготовка концентрирующего патрона Диапак С16 для очистки экстрактов

7.6.1. Подготовка концентрирующего патрона Диапак С16 для очистки экстракта

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

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

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой соотношении 2 : 1, затем 10 мл воды. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.6.2. Проверка хроматографического поведения Пенцикурона на концентрирующем патроне Диапак С16

Из стандартного раствора Пенцикурона в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$, отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 50 $см^3$ и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 $см^3$ воды, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Исходный концентратор обмывают последовательно 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 2, затем 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 2 : 1 и полученные растворы последовательно вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 50 $см^3$, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Пенцикурон, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

7.7. Подготовка концентрирующего патрона Диапак ТА для очистки экстрактов

7.7.1. Подготовка концентрирующего патрона Диапак ТА для очистки экстракта

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

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

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой соотношении 1 : 1, затем 10 мл воды. Элюаты отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона.

7.7.2. Проверка хроматографического поведения Пенцикурона на концентрирующем патроне Диапак ТА

Из стандартного раствора Пенцикурона в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/$см^3$ отбирают 1 $см^3$, помещают в концентратор объемом 50 $см^3$, прибавляют 9 $см^3$ воды, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют.

Исходный концентратор обмывают последовательно двумя порциями по 10 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 9, и полученные растворы последовательно вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 50 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Пенцикурон, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюата.

7.8. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

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

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79 от 21.08.79, а также в соответствии с ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 1743.01—83 «Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 26950—89 «Почвы. Отбор проб», ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. ТУ», ГОСТ 26832—86 «Картофель свежий для переработки на продукты питания. ТУ».

Пробы воды хранят в герметично закрытой стеклянной таре в холодильнике при температуре 0—4 °С.

Пробы почвы просушивают в затененном месте, хранят в сухом шкафу при комнатной температуре.

Пробы клубней картофеля хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С в течение до 3-х суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С до 2-х лет.

Перед анализом почву растирают, просеивают через сито с ячейками диаметром 0,1 мм. Клубни картофеля размораживают и измельчают на терке.

9. Проведение определений

9.1. Вода

9.1.1. Экстракция

Пробу воды объемом 100 $см^3$ помещают в делительную воронку объемом 250 $см^3$ и экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 $см^3$, встряхивая каждый раз делительную воронку 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) объединяют в концентраторе объемом 250 $см^3$, собирая его через слой безводного сульфата натрия. Экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка на концентрирующих патронах Диапак С16

Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 $см^3$ воды, перемешивают и вносят на патрон. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают

последовательно 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 2, элюат отбрасывают.

Пенцикурон элюируют 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 2 : 1. Элюат собирают в концентратор объемом 50 см^3, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и хроматографируют.

9.2. Почва

9.2.1. Экстракция

Пробу почвы массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, приливают туда 10 см^3 воды и экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 50 см^3 по 5 мин на ультразвуковой ванне и дополнительно по 2 мин на механическом встряхивателе. Экстракт декантируют и фильтруют через фильтр «красная лента» в концентратор объемом 250 см^3. Экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.2.2. Очистка на концентрирующих патронах Диапак С, Диапак С 16 и Диапак ТА

Сухой остаток растворяют в 2 см^3 этилацетата, прибавляют 8 см^3 гексана, перемешивают и смыв вносят на патрон Диапак-С. Элюат собирают в концентратор. Исходный концентратор обмывают по 10 см^3 смеси гексана с этилацетатом в соотношении 4 : 1 и полученный раствор вносят на патрон. Элюаты объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 см^3 воды, перемешивают и вносят на патрон Диапак С16. Элюат отбрасывают. Исходный концентратор обмывают последовательно 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 2, элюат отбрасывают.

Пенцикурон элюируют 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 2 : 1. Элюат собирают в концентратор объемом 50 см^3, выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе 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 Диапак ТА. Элюат собирают в концентратор объемом 50 см^3. Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 1 : 9, элюат объединяют с предыдущим и выпари-

вают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.3. Клубни картофеля

9.3.1. Экстракция

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, прибавляют 50 см^3 этилацетата и помещают на 30 мин на механический встряхиватель. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 см^3 через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 см^3 этилацетата и помещая на механический встряхиватель на 15 мин. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 см^3 и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

9.3.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.3.1, прибавляют 3 см^3 этилацетата, обмывают стенки колбы и переносят смыв в делительную воронку объемом 250 см^3, процедуру повторяют. К экстракту в делительной воронке прибавляют 100 см^3 дистиллированной воды, 5 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия и перемешивают. Пенцикурон экстрагируют тремя порциями хлористого метилена объемом по 30 см^3, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия. Объединенный экстракт выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

9.3.3. Очистка экстракта на колонке с окисью алюминия и на концентрирующих патронах Диапак С

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 10 см^3 ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора, наносят на подготовленную колонку, элюат собирают в концентратор. Исходную колбу обмывают 10 см^3 ацетонитрила и вносят на колонку. Элюаты объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток подвергают дальнейшей очистке на концентрирующем патроне Диапак С, как указано в п. 9.2.2. После очистки элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре

не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетонитрила и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.6. Условия хроматографирования.

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

Колонка стальная Symmetry Shield RP18, 4,6 мм × 25 см, зернением 5 мкм.

Предколонка стальная Symmetry C 8, 3,9 мм × 2 см, зернением 5 мкм

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода в соотношении 70 : 30

Длина волны 240 нм

Время удерживания Пенцикурона 10,07 ± 0,2 мин.

Чувствительность 0,005 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 мм^3.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг

10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа Millenium 3.05.01.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание Пенцикурона рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Пенцикурона 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 Пенцикурона в аналитическом стандарте, %.

11. Контроль погрешности измерений

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

12. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

13. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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.*

14. Контроль качества результатов измерений

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

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (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 двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

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

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 Пенцикурона из воды, почвы и клубней картофеля (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Предел обнаружения, мг/кг (л)	Среднее значение определения, мг/кг (л)	Доверительный интервал среднего результата, ± SE, %	Полнота определения, %
Вода	0,005	0,0046	1,95	92
	0,010	0,0094	0,79	94
	0,020	0,0186	1,41	93
	0,050	0,0481	0,36	96,2
Почва	0,01	0,0075	0,5	75
	0,02	0,0148	0,93	74
	0,05	0,0370	0,53	74
	0,10	0,0788	1,2	78,8
Клубни картофеля	0,01	0,0076	1,01	76
	0,02	0,0153	0,76	76,5
	0,05	0,0387	1,04	77,4
	0,10	0,0748	0,46	74,8

gost.e-ecolog.ru