4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2162—4.1.2176—07

Издание официальное

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О37

О37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 — 221с.

1. Сборник подготовлен Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); при участии специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 14

Тираж 100 экз.

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

Содержание

1. Определение остаточных количеств 2,4-Д в масле кукурузы методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2162-07.....4
2. Определение остаточных количеств галоксифопа-р-метила и галоксифопа-р в воде, галоксифопа-р в почве, зеленой массе растений, клубнях картофеля, корнеплодах сахарной, кормовой и столовой свеклы, семенах и масле льна, рапса, сои, подсолнечника методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2163-07.....17
3. Определение остаточных количеств дифеноконазола в картофеле, моркови и томатах методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2164-07.....42
4. Определение остаточных количеств зета-циперметрина в семенах рапса, масле рапса (горчицы) методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2165-07.....56
5. Определение остаточных количеств ипродиона в огурцах и томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2166-07.....69
6. Определение остаточных количеств каптана и фолпета в воде, почве, каптана в яблоках, фолпета в клубнях картофеля и винограде методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2167-07.....83
7. Определение остаточных количеств клопиралида в капусте, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2168-07.....99
8. Определение остаточных количеств метамитрона в ботве и корнеплодах столовой и кормовой свеклы методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2169-07.....113
9. Определение остаточных количеств прометрина в семенах кориандра методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2170-07.....125
10. Определение остаточных количеств римсульфурона в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2171-07.....138
11. Определение остаточных количеств тау-флувалината в зерне и соломе зерновых культур, в ягодах и соке винограда, зеленой массе пастбищных трав, семенах и масле рапса, сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2172-07.....147
12. Определение остаточных количеств тиаметоксама в луке, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2173-07.....163
13. Определение остаточных количеств фамоксадона в плодах томатов, ягодах винограда, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2174-07.....178
14. Определение остаточных количеств цимоксанила в томатах, винограде, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2175-07.....198
15. Измерение концентраций 2,4 D этилгексилового эфира в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2176-07.....212

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации, Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения

Г. Г. Онищенко

« 17 » февраля 2007 г.

Дата введения: с 1 мая 2007 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств ипродиона в огурцах и томатах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания

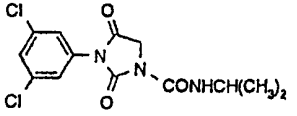
МУК 4.1.2116–07

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации ипродиона в огурцах и томатах в диапазоне 0,02-0,2 мг/кг.

Ипродион – действующее вещество фунгицида Ровраль, СП (500 г/кг), фирма производитель Байер Кроп Сайенс (Германия).

3-(3,5-дихлорфенил)-N-изопропил-2,4-диоксоимидазолидин-1-карбоксамид (ИЮПАК)

3-(3,5-дихлорфенил)-N-(1-метилэтил)-2,4-диоксо-1-имидазолидинкарбоксамид (С.А.)



$C_{13}H_{13}Cl_2N_3O_3$

Мол. масса: 330,2

Белый кристаллический порошок без запаха. Температура плавления: 134,0^{0}С. Давление паров при 25^{0}С: 5,0 х 10^{-4}мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 3,0 (pH 3 и 5). Растворимость (г/л) при 20^{0}С: ацетонитрил - 168, ацетон - 342, дихлорметан - 450, этилацетат - 225, толуол -150, гексан – 0,59, вода - 0,013.

Вещество относительно стабильно в кислой среде, но гидролизуется в водных растворах при pH 7 (DT_{50} =1-7 дней) и значительно быстрее при pH 9 (DT_{50} < 1 часа).

В водных растворах ипродион разрушается под действием УФ-света, но относительно стабилен на солнечном свету.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс и мышей - >2000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - >2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - >5,16 мг/дм^3 воздуха. Ипродион не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика. LC_{50} для рыб - 3,7 мг/л (96 час.).

Инсектицид нетоксичен для птиц, пчел, дафний, земляных червей, почвенных микроорганизмов.

Гигиенические нормативы для ипродиона в России: ОДК в почве – 0,15 мг/кг; ПДК в воде – 0,01 мг/дм^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м^3; МДУ для винограда – 0,4 мг/кг; для картофеля, огурцов, томатов, подсолнечника (семена и масло), моркови и земляники - не допускается в пределах чувствительности метода контроля.

Область применения препарата

Ипродион является контактным фунгицидом с защитным и искореняющим действием. Ингибирует прорастание спор и рост грибного мицелия. Вещество проявляет высокую эффективность против возбудителей септориоза, церкоспороза, альтернариоза, фузариоза, фомоза, белой и серой гнилей всходов, мучнистой росы, фомопсиса на овощных, масличных и цветочных культурах, виноградниках.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ под торговым названием Ровраль, СП (500 г/кг) в качестве средства борьбы с возбудителями фитофтороза, пероноспороза и альтернариоза на посадках огурцов и томатов защищенного грунта путем обработки вегетирующих растений.

1. Метрологические характеристики метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P=0,95 не превышает значений, приведенных в таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, %	Стандартное отклонение повторяемости σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Огурцы	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	3,6	10,1	15,6
	более 0,1 до 0,2	25	1,8	5,0	7,8
Томаты	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	3,6	10,1	15,6
	более 0,1 до 0,2	25	2,8	7,8	12,1

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

Таблица 2

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

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, ±%
Огурцы	0,02	0,02-0,2	83,7	3,6	±3,3
Томаты	0,02	0,02-0,2	85,0	3,57	±3,3

2. Метод измерений

Методика основана на определении ипродиона с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Контроль ипродиона в образцах плодов огурца и томата осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из растительного материала водным ацетоном, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирма Knauer, Германия)	Номер Госреестра №16848-03
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 2104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Ипродион, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества 99,8% (Байер, Германия)	
Ацетон, чда	ГОСТ 2603-79
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная или деионизованная	ГОСТ 6702
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Кислота орто-фосфорная, хч, 85%	ГОСТ 6552
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Ванна ультразвуковая, модель D–50, фирма Branson Instr. Co. (США)

Воронка Бюхнера ГОСТ 0147

Воронки делительные вместимостью 100 $см^3$ ГОСТ 25336

Воронки конусные диаметром 30-37 мм ГОСТ 25336

Гомогенизатор МРТУ 42-1505

Дефлегматор елочный ГОСТ 9737

Колба Бунзена вместимостью 250 $см^3$ ГОСТ 5614

Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 50 и 100 $см^3$ ГОСТ 9737

Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$ ГОСТ 9737

Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм

Колонка хроматографическая, стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм) (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва) ТУ 4215-001-05451931-94

Насос водоструйный вакуумный ГОСТ 10696

Патроны концентрирующие Диапак С8 (0,6 г), (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва) ТУ 4215-002-05451931-94

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария) ТУ 25-11-917-74

Силикагель 60 (0,063-0,2 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, Германия) I степени активности

Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$ ГОСТ 25336

Стекловата

Установка для перегонки растворителей

Фильтры бумажные «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ ТУ 6-09-2678-77

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 100 $мм^3$, модель Microliter # 1710 (Hamilton,США)

Шприц медицинский с разъемом Льюера вместимостью 10 $см^3$ ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими веществами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной 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)^{0}С и относительной влажности не более 80%.

* выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют. Непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.2. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания ее в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.3. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

7.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель 60 (0,063-0,20 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом ацетона и затем высушивают при температуре 130^{0}С в течение 5 часов.

7.2. Приготовление 0,005 М раствора орто-фосфорной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 0,34 см^3 85%-ной ортофосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8 для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 20 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 см^3 смеси гексан-этилацетат (1:9, по объему) и 30 см^3 смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 7 см^3 ацетонитрила и 7 см^3 смеси ацетонитрил-вода (2:8) со скоростью 5 см^3/мин.

7.4. Проверка хроматографического поведения ипродиона на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора № 1 ипродиона с концентрацией 10 мкг/см^3 в ацетонитриле (п. 7.6.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.3. Промывают колонку 50 см^3 смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 50 см^3 смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему). Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1,0 см^3 ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 1,5 см^3 подвижной фазы, подготовленной по п. 7.5., перемешивают и анализируют на содержание ипродиона по п.9.5.

7.5. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см^{3}помещают 650 см^3 ацетонитрила, 350 см^3 0,005 М раствора орто-фосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.6. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.5.) при скорости подачи растворителя 1 см^3/мин не менее 2-х часов до установления стабильной базовой линии.

7.7. Приготовление градуировочных растворов

7.7.1. Исходный раствор ипродиона для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,010 г ипродиона, растворяют в 40-50 см^3 ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение 3-х месяцев.

7.7.2. Раствор ипродиона №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3).

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора ипродиона с концентрацией 100 $мкг/см^3$ (п.7.7.1.), разбавляют до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5, а также для приготовления проб огурцов и томатов с внесением при оценке полноты извлечения ипродиона из исследуемых образцов.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше -18^0С в течение месяца.

7.7.3. Рабочие растворы №№ 2-5 ипродиона для градуировки (концентрация 0,05-0,5 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают 0.5, 1.0, 2.5 и 5.0 $см^3$ градуировочного раствора № 1 ипродиона с концентрацией 10 $мкг/см^3$ (п.7.7.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.5., тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией ипродиона 0.05, 0.1, 0.25 и 0.5 $мкг/см^3$, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.8. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мм) от концентрации ипродиона в растворе ($мкг/см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 $мм^3$ каждого градуировочного раствора (п.7.7.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТами 1725-85 «Томаты свежие» и 1726-85 «Огурцы свежие. Технические условия».

Пробы огурцов и томатов хранят в стеклянной посуде в холодильнике при температуре 4^0С не более 2-х дней; при длительном хранении пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре -18^0С. Перед анализом плоды измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция ипродиона

9.1.1. Плоды. Навеску (25 г) измельченного растительного материала помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, приливают 100 см^3 50%-ного водного ацетона и гомогенизируют 5 минут при 8000 об/мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 50 см^3 50%-ного водного ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/5 его часть (эквивалентна 5 г образца) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Экстракт плодов, полученный по п. 9.1. и помещенный в круглодонную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (10-12 см^3) при температуре 40^{0}С. К водному остатку приливают 15 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 30 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см^3 гексана. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8 по пп. 9.3. и 9.4.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Остаток в круглодонной колбе, полученный по пп. 9.2., растворяют в 3,0 см^3 смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.3. Колбу обмывают 5 см^3 смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 45 см^3 смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Ипродион элюируют с колонки 45 см^3 смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), отбрасывая первые 20 см^3 элюата и собирая последующие 25 см^3 элюата непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^{0}С и остаток

подвергают дополнительной очистке на концентрирующем патроне Диапак С8 по п. 9.4.

9.4. Очистка на концентрирующем патроне Диапак С8

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п.9.3., растворяют в 0,6 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,4 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон Диапак С8, подготовленный по п.7.3., со скоростью 1.2 капли в секунду. Колбу обмывают 2 $см^3$ ацетонитрил-вода (2:8, по объему), которые также вносят на патрон. После нанесения пробы патрон промывают 2 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (5:5, по объему), элюат отбрасывают. Ипродион элюируют с патрона 4 $см^3$ смеси ацетонитрил-0,005 М орто-фосфорная кислота (65:35, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 50 $см^3$. Раствор упаривают досуха при температуре 40^0С. Остаток в колбе растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 1 $см^3$ подвижной фазы, подготовленной по п.7.5., перемешивают и анализируют на содержание ипродиона по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирма Knauer, *Германия*)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая в качестве неподвижной фазы Диасфер 110-С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил-0,005 М орто-фосфорная кислота (65:35, по объему)

Скорость потока элюента: 0,8 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 225 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Время удерживания ипродиона: около 6 минут

Линейный диапазон детектирования 1 - 10 нг

Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-С8 Т (6 мкм)

Время удерживания ипродиона: около 5 мин 40 сек.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

10. Обработка результатов анализа

Содержание ипродиона рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}$$, где

X - содержание ипродиона в пробе, мг/кг;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_0 - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора ипродиона, мкг/см^3;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m - масса анализируемой части образца, г (для плодов – 5 г).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/кг;

r- значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

где $\overline{X}$- среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

менее 0.02 мг/кг для плодов огурца и томата*

* *0.02 мг/кг - предел обнаружения для плодов огурца и томата*

11. 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:

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

где $\pm\ \Delta_{л,\overline{X}} \left(\pm \Delta_{л,\overline{X'}}\right)$ – 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;

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

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

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д,$$

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, концентрация добавки, соответственно, мг/кг;

Норматив контроля К 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 (К).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

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

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

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

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

14. Разработчики

Талалакина Т.Н., науч. сотр; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол.наук.

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20

Подпись руки Талалакиной Т.Н., Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ (Банюлис Г.Г.)

gost.e-ecolog.ru