

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств
этаксола в воде, почве, ботве и
клубнях картофеля, ягодах винограда и
виноградном соке методом
высокоэффективной жидкостной
хроматографии**

Методические указания
МУК 4.1.2403—08

Издание официальное

4.1. Методы контроля. Химические факторы

**Определение остаточных количеств этабоксама
в воде, почве, ботве и клубнях картофеля,
ягодах винограда и виноградном соке методом
высокоэффективной жидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2403-08**

ББК 51.21

О-60

О-60 **Определение остаточных количеств этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 16 с.**

1. Разработаны сотрудниками Всероссийского НИИ защиты растений (В.И. Долженко, И.А. Цибульская, О.С. Юзихин).
2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения (протокол № 2 от 03.07.2008 г.)
3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 17 июля 2008 г.
4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 1,0

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

Тиражировано 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

17 июля 2008 г.

Дата введения: 1 сентября 2008 г.

4.1. Методы контроля. Химические факторы

**Определение остаточных количеств этабоксама
в воде, почве, ботве и клубнях картофеля,
ягодах винограда и виноградном соке методом
высокоэффективной жидкостной хроматографии**

Методические указания

МУК 4.1.2403-08

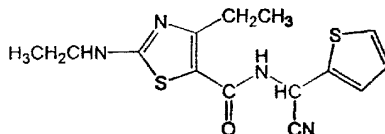
1. Вводная часть

Торговое наименование: LGC-30473.

Фирма производитель: Саммит Агро Европа, Лимитед.

Действующее вещество: Этабоксам.

Структурная формула:



(*RS*)-(α -циано-2-тиэнил)-4-этил-2-(этиламино)-1,3-тиазол-5-карбоксамид (IUPAC)

N-(циано-2-тиенилметил)-4-этил-2-(этиламино)-5-тиазолкарбоксамид (CAS)

Мол. масса: 320,4

Брутто формула: C₁₄H₁₆N₄OS₂

Химически чистый этабоксам представляет собой белый кристаллический порошок с температурой плавления 185 °С, давлением паров 8.1×10^{-2} мПа (25°С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} $IgP=2.89$ (20°С, рН 7).

Растворимость в воде 4.8 мг/дм³ (20°С), 5.2 мг/дм³ (25°С, рН 7).

Растворимость в органических растворителях (г/дм³, 20°С): н-гептан – 0.000392; ксилол – 0.136; 1,2-дихлорэтан – 2.90; метанол – 17.6; н-октанол – 0.374; ацетон – 39.7; этилацетат – 10.6. Стабилен в водных растворах при рН 4–9.

LD₅₀ для крыс >5000 мг/кг. Не ирритант для кожи и глаз (кролики). Ингаляционная активность LC₅₀>4.89 мг/дм³. Не показал мутагенной активности в микробиологических тестах и тестах на животных.

Область применения: профилактический, лечебный, трансламидный и системный фунгицид, применяется для контроля оомицетов, таких, как пушистая плесень на винограде и картофеле с нормой расхода 125 – 250 г/га. Ингибитор роста и спороношения грибов.

Гигиенические нормативы для этабоксама в России не установлены.

2. Методика определения этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке методом ВЭЖХ

2.1. Основные положения

2.1.1. Область применения и принцип метода

Настоящий документ устанавливает методику определения остаточных количеств этабоксама в воде в диапазоне концентраций 0.002–0.02 мг/кг, почве – 0.01–0.1 мг/кг, ботве картофеля – 0.02–0.2 мг/кг, клубнях картофеля – 0.01–0.1 мг/кг, ягодах винограда – 0.004–0.04 мг/кг, виноградном соке – 0.004–0.04 мг/кг.

Методика основана на определении этабоксама методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов органическим растворителем с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями и на колонке с силикагелем.

2.1.2. 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 таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, %	Стандартное отклонение повторяемости, σ_p , %	Предел повторяемости, r , %	Предел воспроизводимости, R , %
Вода	0 002-0 01	100	5 2	14 6	22 6
Вода	0 01-0 02	50	5 0	14 0	21 7
Почва	0 01-0 1	50	5 7	16 0	24 8
Виноград (ягоды)	0 004 0 005	100	5 6	15 7	24 3
Виноград (ягоды)	0 005-0 04	50	5 2	14 6	22 6
Виноград (сок)	0 004-0 005	100	5 5	15 4	23 9
Виноград (сок)	0 005-0 04	50	5 1	14 3	22 2
Картофель (ботва)	0 02-0 1	50	5 3	14 8	22 9
Картофель (ботва)	0 1-0 2	25	5 2	14 6	22 6
Картофель (клубни)	0 01-0 1	50	5 1	14 3	22 2

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

Таблица 2

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S , %	Доверительный интервал среднего результата, \pm , %
Вода	0 002	0 002-0 02	87 3	4 4	4 0
Почва	0 01	0 01 0 1	85 4	4 8	4 4
Виноград (ягоды)	0 004	0 004 0 04	83 0	4 3	3 9
Виноград (сок)	0 004	0 004-0 04	85 6	4 7	4 3

Картофель (ботва)	0.02	0.02-0.2	80.5	4.5	4.1
Картофель (клубни)	0.01	0.01-0.1	83.0	4.3	3.9

2.1.3. Избирательность метода

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографического анализа.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, осч, ТУ 6-09-3513-86.

Ацетонитрил для ВЭЖХ, "В-230НМ".

Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.

Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 6709-79.

Диэтиловый эфир, ч., ОСТ 84-2006-88.

Железо (II) серноокисное, х.ч., ГОСТ 4148-78.

Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.

Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161-77.

Кислота ортофосфорная, имп. (Ferak, Германия) или хч, ГОСТ 6552-80; 2М и 0.025М водные растворы.

Кислота серная, х.ч., ГОСТ 4204-77.

Натрий серноокислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.

Натрий хлористый, ч.д.а., ГОСТ 4233-77.

Натрия гидроксид, х.ч., ГОСТ 4328-77.

н-Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98, свежеперегнаный.

Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил – 0,025М ортофосфорная кислота (25:75, по объему).

Силикагель для колоночной хроматографии 60 (0.040–0.063 mm) (Merck, Германия).

Стекловата.

Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.

Элюент № 1 для колоночной хроматографии: смесь гексан – диэтиловый эфир (50: 50, по объему).

Элюент № 2 для колоночной хроматографии: смесь гексан – диэтиловый эфир (25:75, по объему).

Этабоксам, аналитический стандарт с содержанием д.в. 98%.

2.3. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы "Waters" с УФ детектором (Waters 2487) с дегазатором и автоматическим пробоотборником или аналогичный.

Колонка Symmetry C-18 (250x4.6) мм, 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная.

Предколонка Waters Symmetry C-18.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 24104-2001 или аналогичные.

Гомогенизатор, МРТУ 42-1505-63.

Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836 008.

Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный

Бидистиллятор.

pH-метр универсальный ЭВ-74, ГОСТ 22261-76.

Насос водоструйный, МРТУ 42 861-64.

Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС, ГОСТ 10384-72.

Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29-32 ТС, ГОСТ 10384-72.

Воронки лабораторные В-75-110, ГОСТ 25 336-82.

Воронки делительные ВД-3-250, ГОСТ 8613-75.

Цилиндры мерные на 100, 250 и 1000 см³, ГОСТ 1774-74.

Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1000 см³, ГОСТ 1770-74.

Пипетки на 1, 2, 5, 10 см³, ГОСТ 22292-74.

Колонки стеклянные (25x1) см.

2.4. Отбор и хранение проб

Отбор проб почвы производится в соответствии с ГОСТ 28168-89 «Почвы Отбор проб»; воды - ГОСТ Р 51592-2000 «Вода Общие требования к отбору проб»; картофеля - ГОСТ 7194-81 «Картофель свежий Правила приемки и методы определения качества»; винограда – ГОСТ 25896-83 «Виноград свежий столовый Технические условия» 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 просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Пробы ботвы и

клубней картофеля, ягод винограда хранят до анализа в морозильной камере при температуре не выше -18°C в течение месяца. Перед анализом их гомогенизируют. Пробы воды и виноградного сока хранят в холодильнике при температуре $0-4^{\circ}\text{C}$ в течение недели.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 см^3 растворителя упаривают в ротационном вакуумном испарителе при температуре $+40^{\circ}\text{C}$ до объема $1,0\text{ см}^3$ и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с общепринятыми методиками. Гексан встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции кислоты, затем промывают водой, 2%-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют. Диэтиловый эфир (1 дм^3) предварительно встряхивают с 20 см^3 свежеприготовленного раствора железного купороса (30 г сульфата железа в 55 см^3 воды с добавлением $1,5\text{ г}$ концентрированной серной кислоты). Затем диэтиловый эфир последовательно промывают 0,5 %-ным раствором перманганата калия, 5 %-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют. Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 дм^3 ацетона 10 г KMnO_4 и 2 г K_2CO_3).

2.5.2. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа колонку (Symmetry C-18) кондиционируют в потоке подвижной фазы ($1\text{ см}^3/\text{мин}$) до стабилизации нулевой линии в течение 1–2 часов.

2.5.3. Приготовление растворов

Для приготовления 2М раствора ортофосфорной кислоты 200 г 98% (или 225 г 87%) кристаллической H_3PO_4 помещают в мерную колбу объемом 1000 см^3 , растворяют в 600 см^3 дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Для приготовления 0.025М раствора ортофосфорной кислоты $12,5\text{ см}^3$ 2М раствора H_3PO_4 вносят в мерную колбу на 1000 см^3 и доводят до метки деионизированным бидистиллятом.

Для получения 50%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 дм³ смешивают 500 см³ ацетона с 500 см³ дистиллированной воды.

Для получения 25%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 дм³ смешивают 250 см³ ацетона с 750 см³ дистиллированной воды.

Для приготовления насыщенного раствора хлорида натрия 380 г NaCl растворяют при нагревании в 1 л дистиллированной воды, полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр "красная лента".

Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с 0.025М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 25:75 по объёму, используя мерные цилиндры.

Для приготовления элюента №1 в колбе на 1000 см³ смешивают 500 см³ н-гексана и 500 см³ диэтилового эфира.

Для приготовления элюента №2 в колбе на 1000 см³ смешивают 250 см³ н-гексана и 750 см³ диэтилового эфира.

Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску этабоксама (50 мг), переносят в мерную колбу на 100 см³, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки (стандартный раствор с концентрацией 0.5 мг/см³). Градуировочные растворы с концентрациями 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/см³ готовят методом последовательного разбавления по объёму, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрил – 0.025М ортофосфорная кислота (25:75, по объёму)).

Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0–4°C в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты открывания этабоксама в воде, почве, ботве и клубнях картофеля, ягодах винограда и виноградном соке используют ацетонитрильные растворы вещества. Растворы внесения с концентрациями 0.1 и 1.0 мкг/см³ готовят из стандартного раствора с концентрацией 0.5 мг/см³ методом последовательного разбавления по объёму ацетонитрилом.

2.5.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика - концентрация этабоксама в растворе) в хроматограф вводят по 50 мм³ градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют площади пиков и строят график зависимости сред-

него значения площади пика от концентрации этабоксама в градуировочном растворе ($\text{мкг}/\text{см}^3$).

2.5.5. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 30 см^3 смеси гексан – диэтиловый эфир (50:50, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 30 см^3 элюента №2 и 30 см^3 элюента №1 со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.6. Проверка хроматографического поведения этабоксама на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 см^3 отбирают $0,1 \text{ см}^3$ стандартного раствора этабоксама с концентрацией $10 \text{ мкг}/\text{см}^3$. Отдувают растворитель током теплого воздуха (температура не выше 40°C), остаток растворяют в 5 см^3 элюента №1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 см^3 элюента №1 и также вносят на колонку. Промывают колонку 30 см^3 элюента №1, которые отбрасывают, затем 100 см^3 элюента № 2 со скоростью 1–2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 см^3 каждая, выпаривают, остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.3.) и анализируют на содержание этабоксама (п. 2.6.5).

Фракции, содержащие этабоксам, объединяют, выпаривают досуха, остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют (п. 2.6.5.). Рассчитывают содержание этабоксама в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: параметры удерживания этабоксама и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Извлечение этабоксама из проб воды и виноградного сока

Перед проведением анализа пробу виноградного сока объемом 50 см^3 доводят до объема 100 см^3 дистиллированной водой. Пробу воды или разбавленного сока объемом 100 см^3 помещают в коническую колбу емкостью 250 см^3 и экстрагируют этабоксам диэтиловым эфиром трижды порциями по 50 см^3 , встряхивая смесь каждый раз в течение

2–3 мин и собирая верхний эфирный слой.* Объединённый экстракт промывают в делительной воронке 0.025M раствором NaOH дважды порциями по 25 см³, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой. Экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 см³ диэтилового эфира. После этого экстракт выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°C. При необходимости проводят дополнительную очистку экстракта на колонке с силикагелем по пункту 2.6.4.

Сухой остаток растворяют в 2 см³ подвижной фазы для ВЭЖХ и 50 мм³ раствора вводят в жидкостный хроматограф.

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.

2.6.2. Извлечение этабоксама из проб ягод винограда

Гомогенизированные пробы ягод винограда массой 50 г помещают в коническую колбу емкостью 250 см³ и экстрагируют этабоксам 50 см³ 75%-ного водного ацетона на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Осадок с фильтра количественно переносят назад в колбу. Экстракцию проводят ещё дважды. Объединённый экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°C до полного удаления ацетона (объем 50-60 см³). Объем экстракта доводят до 100 см³ добавлением дистиллированной воды. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Раствор помещают в делительную воронку объемом 250 см³ и экстрагируют этабоксам диэтиловым эфиром трижды порциями по 50 см³, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой.* Объединённый экстракт промывают в делительной воронке 0.025M раствором NaOH дважды порциями по 25 см³, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой. Экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 см³ диэтилового эфира. После этого экстракт выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°C. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.4.

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.

2.6.3. Извлечение этабоксама из проб почвы, ботвы и клубней картофеля

Гомогенизированные пробы клубней картофеля, воздушно-сухой почвы массой 20 г или ботвы картофеля массой 10 г помещают в коническую колбу емкостью 250 см³ и экстрагируют этабоксам 50 см³ 50%-ного водного ацетона на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Осадок с фильтра количественно переносят назад в колбу. Экстракцию проводят ещё дважды. Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°C до полного удаления ацетона (объем 70-75 см³). Объем экстракта доводят до 100 см³ добавлением дистиллированной воды. Раствор помещают в делительную воронку объемом 250 см³ и экстрагируют этабоксам диэтиловым эфиром трижды порциями по 50 см³, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой.* Объединенный экстракт промывают в делительной воронке 0.025М раствором NaOH дважды порциями по 25 см³, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 мин и собирая верхний эфирный слой. Экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 см³ диэтилового эфира. После этого экстракт выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°C. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.4.

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.

* В случае образования сравнительно стойких эмульсий для сокращения времени расслоения (на стадии переэкстракции из водного раствора в диэтиловый эфир) в делительную воронку можно добавить насыщенный раствор хлорида натрия (15–20 см³).

2.6.4. Очистка на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный по п.п. 2.6.1–3, количественно переносят двумя порциями по 5 см³ смеси гексан – диэтиловый эфир (50:50, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п.2.5.5). Промывают колонку 30 см³ элюента № 1, который отбрасывают. Этабоксам элюируют 75 см³ элюента № 2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 250 см³. Раствор выпаривают досуха в вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40°C. Сухой остаток растворяют в 2 см³ подвижной фазы для ВЭЖХ и 50 мм³ раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.5. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы «Waters» с УФ детектором (Waters 2487), снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки или другой с аналогичными характеристиками.

Колонка Symmetry C18 (250×4.6) мм, зрение 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная.

Температура колонки 30±1°С.

Предколонка Symmetry C18 для защиты аналитической колонки.

Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.025М ортофосфорная кислота в объемном соотношении 25:75.

Скорость потока элюента: 1 см³/мин.

Рабочая длина волны 235 нм.

Объем вводимой пробы 50 мм³.

Время удерживания этабоксама 11.6 ± 0.2 мин.

Линейный диапазон детектирования 0.1 – 2.00 мкг/см³.

2.6.6. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание этабоксама в образцах, воды, почвы, ботвы и клубней картофеля, ягодах винограда и виноградном соке (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P},$$

где S₁- площадь пика этабоксама в стандартном растворе, мм;

S₂- площадь пика этабоксама в анализируемой пробе, мм;

V - объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, см³;

P - навеска анализируемого образца, г, для воды и виноградного сока – объём в см³;

C - концентрация стандартного раствора этабоксама, мкг/см³.

Содержание остаточных количеств этабоксама в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2-х параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор этабоксама 2 мкг/см³, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

3. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

где 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.

4. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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).

5. 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».

5.1. Стабильность результатов измерений контролируют перед

проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

5.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки C_d должна удовлетворять условию:

$$C_d = \Delta_{n,x} + \Delta_{n,x}',$$

где $\pm \Delta_{n,x}$ ($\pm \Delta_{n,x}'$) – 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:

$$\Delta_n = \pm 0.84 \Delta,$$

где Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры K_x рассчитывают по формуле:

$$K_x = X' - X - C_d,$$

где X' , X , C_d – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.4) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta_{n,x}^2 + \Delta_{n,x}'^2}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры (K_x) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_x| \leq K, \quad (2)$$

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.

5.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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

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

6. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1.005-88).

При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкциями по эксплуатации приборов.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91.

7. Требования к квалификации оператора

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 5.

8. Разработчики

Долженко В.И., Цибульская И.А., Юзихин О.С. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург.