

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

БК 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-эпидемиологическому 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.

БК 51.21

Формат 60x88/16

Тираж 100 экз.

Печ. л. 14

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 римсульфурана 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 Д 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

« 11 » февраля 2007 г.

Дата введения: с 1 мая 2007 г.

Г. Г. Онищенко

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания

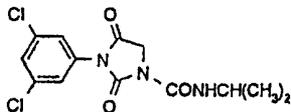
МУК 4.1.244-07

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°C.
Давление паров при 25°C: $5,0 \times 10^{-4}$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода:
 $K_{ow} \log P = 3,0$ (рН 3 и 5). Растворимость (г/л) при 20°C: ацетонитрил - 168, ацетон - 342, дихлорметан - 450, этилацетат - 225, толуол - 150, гексан - 0,59, вода - 0,013.

Вещество относительно стабильно в кислой среде, но гидролизруется 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 свете.

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/дм³ 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/дм³; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м³; 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, фомосиса 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), $\pm\delta$, %	Стандартное отклонение повторяемости σ , %	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, $\pm\%$
Огурцы	0,02	0,02-0,2	83,7	3,6	$\pm 3,3$
Томаты	0,02	0,02-0,2	85,0	3,57	$\pm 3,3$

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 Клауег, 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 шлифованной 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

92

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 Vuchi (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 $(20\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 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 n-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 130⁰С в течение 5 часов.

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

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 0,34 см³ 85%-ной орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диapak C8 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 см³ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 см³ смеси гексан-этилацетат (1:9, по объему) и 30 см³ 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 см³ ацетонитрила и 7 см³ смеси ацетонитрил-вода (2:8) со скоростью 5 см³/мин.

7.4. Проверка хроматографического поведения ипродиона на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,1 см³ градуировочного раствора № 1 ипродиона с концентрацией 10 мкг/см³ в ацетонитриле (п. 7.6.2), раствор упаривают досуха, остаток растворяют в 3 см³ 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 см³ смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 50 см³ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему). Фракционно (по 10 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1,0 см³ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 1,5 см³ 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 см³ помещают 650 см³ ацетонитрила, 350 см³ 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 см³/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/см³).
В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,010 г ипродиона, растворяют в 40-50 см³ ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше -18⁰С в течение 3-х месяцев.

7.7.2. Раствор ипродиона №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см³).

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ исходного раствора ипродиона с концентрацией 100 мкг/см³ (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°C в течение месяца.

7.7.3. Рабочие растворы №№ 2-5 ипродиона для градуировки (концентрация 0,05-0,5 мкг/см³).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают 0,5, 1,0, 2,5 и 5,0 см³ градуировочного раствора № 1 ипродиона с концентрацией 10 мкг/см³ (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/см³, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.8. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мм) от концентрации ипродиона в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм³ 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°C не более 2-х дней; при длительном хранении пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре -18°C. 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 см³, приливают 100 см³ 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 см³. Осадок на фильтре промывают 50 см³ 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 см³. 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 см³) при температуре 40⁰С. К водному остатку приливают 15 см³ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см³. В воронку вносят 30 см³ 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 см³. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 см³ гексана. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой безводного сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30⁰С 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 см³ 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 см³ смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 45 см³ смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Ипродион элюируют с колонки 45 см³ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), отбрасывая первые 20 см³ элюата и собирая последующие 25 см³ элюата непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см³. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40⁰С 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 см³ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,4 см³ 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 см³ ацетонитрил-вода (2:8, по объему), которые также вносят на патрон. После нанесения пробы патрон промывают 2 см³ смеси ацетонитрил-вода (5:5, по объему), элюат отбрасывают. Ипродион элюируют с патрона 4 см³ смеси ацетонитрил-0,005 М орто-фосфорная кислота (65:35, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 50 см³. Раствор упаривают досуха при температуре 40^oС. Остаток в колбе растворяют в 1 см³ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, вносят 1 см³ 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 Клаега, 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 см³/мин

Рабочая длина волны: 225 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 мм³

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/см³, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

10. Обработка результатов анализа

Содержание ипродиона рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{N_1 \times A \times V}{N_0 \times m}, \text{ где}$$

X - содержание ипродиона в пробе, мг/кг;

N₁ - высота пика образца, мм;

N₀ - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора ипродиона, мкг/см³;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

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):

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

где X₁, X₂ - 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:

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

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, 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_0 должна удовлетворять условию:

$$C_0 = \Delta_{\bar{X}} + \Delta_{\bar{X}'},$$

где $\pm \Delta_{\bar{X}} (\pm \Delta_{\bar{X}'})$ - 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:

$$\Delta_n = \pm 0,84 \Delta,$$

где Δ - граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры K_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C_0,$$

где \bar{X}' , \bar{X} , C_0 - 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

$$K = \sqrt{\Delta^2_{s, \bar{x}} + \Delta^2_{s, \bar{x}}}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

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

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 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)

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

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

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

Зав. канцелярией ВНИИФ (Банюлис Г.Г.)

