Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств карфентразон-этила по его метаболиту карфентразону в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3373—16

Издание официальное

Москва • 2017

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств карфентразон-этила по его метаболиту карфентразону в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3373—16

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств карфентразон-этила по его метаболиту карфентразону в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017.—20 с.

ISBN 978—5—7508—1548—7

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (В. А. Калинин, А. В. Довгилевич, А. В. Калинин, Е. Н. Тестова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 20 мая 2016 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 5 июля 2016 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор К. В. Шмат
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 07.02.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 14

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2017
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2017

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
5 июля 2016 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств карфентразон-этила по его метаболиту карфентразону в клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3373—16

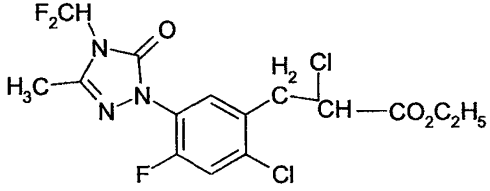
Свидетельство о метрологической аттестации РОСС RU.0001.310430/0217.16.10.14 от 16.10.2014.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода газожидкостной хроматографии для совместного определения уровня остаточных количеств карфентразон-этила по его метаболиту карфентразону в клубнях картофеля в диапазоне 0,01—0,10 мг/кг. Методические указания носят рекомендательный характер.

Карфентразон-этил

Этиловый эфир (R,S)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(4-дифторметил-4,5-дигидро-3-метил-5-оксо-1*H*-1,2,4-триазол-1-ил)-4-фторфенил]пропионовой кислоты

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{14}Cl_2F_3N_3O_3$.

Молекулярная масса: 412,2.

Агрегатное состояние: вязкая жидкость.

Цвет, запах: желтый, с легким нефтяным запахом.

Давление насыщенного пара: $1,6 \times 10^{-2}$ мПа (при 25 °С).

Температура плавления/замерзания: –22,1 °С.

Коэффициент распределения в системе октанол–вода: K_{ow} logP = 2,5 при 20 °С.

Растворимость в воде (мг/дм^3): 12—30 (в зависимости от pH).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 25 °С): гексан – 3, толуол – 90. Смешивается во всех соотношениях с ацетоном, хлористым метиленом, этанолом и этилацетатом.

Карфентразон-этил в водной среде гидролитически стабилен при pH 5; при pH 7 гидролизуется на 50 % за 13,7 дней, а при pH 9 – за 5,1 часа.

Под действием солнечного излучения и при повышенных температурах разрушается относительно быстро.

Карфентразон-этил практически не связывается с почвой, однако вследствие его чрезвычайно низкой устойчивости в почве время полуразложения составляет 0,55—0,58 сут.

Краткая токсикологическая характеристика. Карфентразон-этил относится к веществам малоопасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс – 5 143 мг/кг) и дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс – более 4 000 мг/кг), но к умеренно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ (4 часа) для крыс более 5 000 мг/м^3). Слабо раздражает кожу и конъюнктиву.

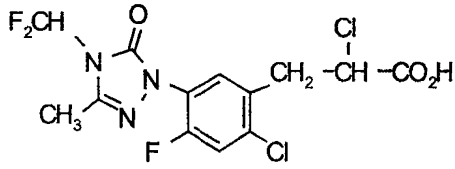
Область применения. Карфентразон-этил – гербицид из группы триазолинонов системного действия, хорошо проникающий в растения через листья, но слабо передвигающийся по растению. Механизм действия связан с ингибированием активности протопорфириногеноксидазы. Высокоэффективен против широкого спектра двудольных сорняков в посевах злаковых культур при норме расхода 9—35 г д.в./га.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,03 мг/кг массы тела человека; ОДК в почве – 0,06; ПДК в воде водоема – 0,1 мг/дм^3; ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,01 мг/м^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,4 мг/м^3; МДУ в продукции (мг/кг): зерно хлебных злаков, рапс (зерно, масло), подсолнечник (семена, масло), кукуруза (зерно, масло) – 0,02.

Карфентразон – основной метаболит карфентразон-этила:

2-хлор-3-[2-хлор-4-фтор-5-(4-дифторметил-4,5-дигидро-3-метил-5-оксо-1 *H*-1,2,4-триазол-1 -ил)фенил]пропионовая кислота.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{13}H_{10}Cl_2F_3N_3O_3$.
Молекулярная масса 384,2.

1. Погрешность измерений

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

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

Таблица 1

Метрологические параметры для карфентразона

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, %
Клубни картофеля	0,01—0,1 вкл.	50	9,14	25,41	35,57

Таблица 2

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

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,10	83,52	7,77	3,04

2. Метод измерения

Остаточное колмчество карфентразон-этила определяется по его основному метаболиту (карфентразону) методом газожидкостной хроматографии с использованием детектора по захвату электронов (ЭЗД) после экстракции карфентразона из образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами, бутилирования и дополнительной очистки полученного бутилового эфира карфентразона на колонках с флоризилом.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность метода достигается за счет подбора колонки и условий программирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – специальный (I), с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	
Весы лабораторные общего назначения класса точности по ГОСТ Р 53228—08 – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 см^3	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 10 мм^3 со шкалой деления 0,1 мм^3 и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 %	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см^3	ГОСТ 29227—91
pH-метр/милливольтметр с диапазоном измерения 0…14 pH; ± 1 999 мВ	
Хроматографическая система, включающая: – хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки; – компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматогра-	

фического анализа, обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Примечание. Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Карфентразон, CAS 128621-72-7, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 99,3 %	
Азот, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
н-Бутанол, ч	ГОСТ 6006—78
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный	ТУ 51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Кислота уксусная, ледяная	ГОСТ 61—75
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Флоризил (Магния силикат, 99 %, CAS 1343-88-0) для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш.	
Этилацетат, чда	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	

Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Виалы (пузырьки) с тефлоновыми прокладками емкостью 40 $см^3$	
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренним диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана, и толщиной пленки 0,25 мкм	
Колонки хроматографические, стеклянные или пластиковые длиной 150—250 мм и диаметром 15 мм	
Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 %, с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс, с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 $дм^3$/мин	
Стаканы стеклянные термостойкие объемом 100—500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 $см^3$ и приемной конической колбой объемом 1 000 $см^3$	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ 6-09-1678—86

Шприц инъекционный многократного применения объемом 10 см^3 ГОСТ 22967—90

Примечание. 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—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. 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—91.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

– приготовление растворов и подготовку проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С, относительной влажности не более 80 % и нормальном атмосферном давлении;

– измерения на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка колонок с флоризилом для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонках с флоризилом, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5°С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, добавляют туда марганцовокислый калий из расчета 100 мг/дм^3. Ацетон перегоняют при температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм^3 и кипятят в течение 6 часов.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.1.4. Очистка хлористого метилена

Хлористый метилен промывают равным объемом 5 % раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 часов. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Хлористый метилен перегоняют при температуре 40,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 40,0 °С, отбрасывают.

7.1.5. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают равным объемом 5 % раствора натрия углекислого (безводного), осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают

его над осушителем в течение 12—24 часов. Затем этилацетат сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей. Этилацетат перегоняют при температуре 77,1 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 77,1 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление рабочих растворов

7.2.1.1. Приготовление 4 н раствора серной кислоты. Мерным цилиндром отбирают 112 см^3 концентрированной серной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 1 000 см^3, куда предварительно наливают около 300 см^3 дистиллированной воды. Затем раствор перемешивают и после охлаждения доводят водой объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.1.2. Приготовление 2 % раствора серной кислоты в бутаноле (бутилирующей смеси). Мерной пипеткой отбирают 2 см^3 концентрированной серной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 100 см^3, куда предварительно наливают около 60 см^3 бутанола. Затем раствор перемешивают и доводят бутанолом объем в колбе до метки (при приготовлении раствора соблюдать осторожность и работать под тягой).

7.2.2. Приготовление градуировочных растворов

7.2.2.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией карфентразона 1,0 мг/см^3. Взвешивают 50 мг карфентразона в мерной колбе объемом 50 см^3. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 1 хранится в холодильнике в течение 6 месяцев.

7.2.2.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией карфентразона 100,0 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 2 используется для приготовления стандартных растворов для построения калибровочной кривой. Стандартный раствор № 2 хранится в холодильнике в течение месяца.

7.2.2.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией карфентразона 1,0 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 100 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для построения калибровочной кривой и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 3 хранится в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.2.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией карфентразона 0,5 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 4 используется для построения калибровочной кривой и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 4 хранится в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.2.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией карфентразона 0,2 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 5 используется для построения калибровочной кривой и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 5 хранится в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.2.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией карфентразона 0,1 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 6 используется для построения калибровочной кривой и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 6 хранится в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.2.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией карфентразона 0,05 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 7 используется для построения калибровочной кривой и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 7 хранится в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.2.8. Стандартный раствор № 8 с концентрацией карфентразона 0,02 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 5 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 7 используется для построения калибровочной кривой и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 8 хранится в холодильнике в течение 14 суток.

7.2.2.9. Стандартный раствор № 9 с концентрацией карфентразона 0,01 мкг/см^3. Из стандартного раствора № 6 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3 и доводят объем до метки ацетоном. Стандартный раствор № 9 используется для построения калибровочной кривой и для внесения в контрольные образцы. Стандартный раствор № 9 хранится в холодильнике в течение 14 суток.

7.3. Бутилирование

7.3.1. Бутилирование стандартных растворов

В виалы объемом 40 см^3 помещают по 1 см^3 каждого стандартного раствора карфентразона в ацетоне (№ 6, 7, 8, 9), удаляют растворитель током теплого воздуха и проводят бутилирование.

К сухому остатку в виале прибавляют 1,5 $см^3$ 2 % раствора концентрированной серной кислоты в бутаноле (бутилирующей смеси), полученной по п. 7.2.1.2, тщательно обмывают стенки виалы. Виалу плотно закрывают крышкой, помещают в блок для виал, нагретый до 100 °С, и оставляют на 60 минут. По истечении этого времени в виалу вынимают из блока, охлаждают до комнатной температуры, добавляют 10 $см^3$ гексана и 15—25 $см^3$ бидистиллированной воды. Смесь интенсивно встряхивают и после разделения фаз в виале из верхнего (гексанового) слоя 1 $мм^3$ вводят в хроматограф.

7.4. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации карфентразона в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 мкг/$см^3$.

В испаритель хроматографа вводят по 1 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений.

7.5. Подготовка колонок с флоризилом для очистки экстракта и проверка хроматографического поведения бутилового эфира карфентразона на ней

7.5.1. Подготовка колонки с флоризилом для очистки экстракта

В пластиковую или стеклянную колонку диаметром 15 мм помещают 4 г флоризила с зернением 60/100 меш. и, аккуратно постукивая по стенкам колонки, формируют слой адсорбента. На слой флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см.

Перед использованием колонку промывают 25 $см^3$ этилацетата, затем 20 $см^3$ гексана

7.5.2. Проверка хроматографического поведения бутилового эфира карфентразона на колонке с флоризилом

В концентратор объемом 100 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора бутилового эфира карфентразона в гексане с концентрацией 0,1 мкг/$см^3$ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 $см^3$ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу обмывают сначала 20 $см^3$ гексана, затем 10 $см^3$ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 95 : 5, а затем еще тремя

порциями смеси гексана с этилацетатом в соотношении 8 : 2 объемом 10 см^3 каждая и последовательно вносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы объемом по 100 см^3 и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 см^3 гексана и 1 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие карфентразон, полноту смывания с колонки и необходимый объём элюента.

Изучение поведения карфентразона на колонке проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии флоризила.

8. Отбор проб и хранение.

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, а также в соответствии с ГОСТ 27853—88, ГОСТ 13341—77 «Свежие и свежемороженые овощи, картофель, бахчевые, фрукты, ягоды, грибы. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 7176—85 «Картофель свежий продовольственный, заготовляемый и поставляемый. ТУ».

Пробы клубней картофеля хранят в полиэтиленовой таре в морозильнике при температуре –18 °С.

9. Выполнение определения

9.1. Клубни картофеля

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец измельченных клубней картофеля массой 10 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, добавляют 50 см^3 смеси ацетонитрила с водой и уксусной кислотой в соотношении 80 : 20 : 2 и помещают на аппарат для встряхивания проб на 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр низкой плотности в концентратор объемом 250 см^3. Экстракцию повторяют еще один раз в тех же условиях. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 см^3 и упаривают до водного остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К водному остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.1, добавляют 50 см^3 дистиллированной воды и доводят значение pH до 1—2,

добавляя 4 н серную кислоту. Перемешивают содержимое концентратора и переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$. Добавляют в делительную воронку 5 г хлористого натрия, перемешивают содержимое воронки.

Карфентразон экстрагируют тремя порциями хлористого метилена по 30 $см^3$, встряхивая каждый раз делительную воронку в течении 2 минут. Хлористый метилен собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

9.1.3. Бутилирование экстракта

К сухому остатку в концентраторе, полученному по п. 9.1.2, прибавляют 2 $см^3$ хлористого метилена, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят его в виалу. Процедуру повторяют еще 2 раза, используя по 2 $см^3$ хлористого метилена. Растворитель удаляют током теплого воздуха и проводят бутилирование.

К сухому остатку в виале прибавляют 1,5 $см^3$ 2 % раствора концентрированной серной кислоты в бутаноле (бутилирующей смеси), полученной по п. 7.2.1.2, тщательно обмывают стенки виалы. Виалу плотно закрывают крышкой, помещают в блок для виал, нагретый до 100 °С, и оставляют на 60 минут. По истечении этого времени виалу вынимают из блока, охлаждают до комнатной температуры, добавляют 10 $см^3$ гексана и 15—25 $см^3$ бидистиллированной воды. Смесь интенсивно встряхивают.

9.1.4. Очистка бутилированного экстракта на колонках с флоризилом

Из верхнего (гексанового) слоя в виале, полученного в п. 9.1.3, отбирают 5 $см^3$ и наносят на заранее подготовленную колонку с флоризилом.

Исходную колбу обмывают сначала 20 $см^3$ гексана, затем 10 $см^3$ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 95 : 5, элюаты отбрасывают.

Карфентразон элюируют с колонки 15 $см^3$ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 8 : 2. Элюат собирают в концентратор объемом 100 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 5 $см^3$ гексана и 1 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.2. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (ЭЗД), снабженный приспособлениями для капиллярной колонки;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла, с внутренним диаметром 0,25 мм, длиной 30 м, с неподвижной фазой, содержащей 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана, и толщиной пленки 0,25 мкм.

Температура детектора – 300 °С, поток поддува в детектор (азот) – 45 мл/мин.

Температура испарителя – 280 °С

Нагрев термостата колонки программированный: начальная температура 180 °С, выдержка 1 мин; нагрев колонки по 10 градусов в минуту до 270 °С.

Газ-носитель – (РРГ-2, гелий), линейная скорость – 26,0 см/с, давление – 110 кПа, поток 0,79 мл/мин.

Расход сбросной (РРГ-1, гелий) – 10 мл/мин (1 мин), деление потока 12,6.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,01—0,1 нг.

10. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется компьютерное программное обеспечение химического анализа, которое входит в хроматографическую систему.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание карфентразон-этила по карфентразону в пробах картофеля рассчитывают по формуле, без учета полноты извлечения вещества из проб:

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

X – содержание карфентразон-этила в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика бутилового эфира стандарта, мм;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика бутилового эфира образца, мм;

A – концентрация карфентразона в бутилированном стандартном растворе, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемого образца, г;

P – содержание карфентразона в аналитическом стандарте, %.

К – коэффициент пересчета молекулярных масс карфентразона и карфентразон-этила, равный 1,073.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг или мг/дм^3;

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений, а также контроль стабильности градуировочной характеристики осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для карфентразона проводят при смене основного градуировочного раствора № 1 каждые 6 месяцев, при смене основного градуировочного раствора № 2 – каждый месяц, при смене основных градуировочных растворов № 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 – каждые 14 дней, а также в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание карфентразона в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,01 до 0,10 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого градуировочного раствора, используемого для контроля, сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 4{,}59 \text{, где}$$

X – концентрация карфентразона контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора карфентразона в гексане, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

4,59 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (A) превышает 4,59 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов карфентразона, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.4.

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;

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

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 условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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 карфентразона из клубней картофеля (5 повторностей для каждой концентрации, *P* = 0,95)

Среда	Внесено карфентразона, мг/кг	Обнаружено карфентразона, мг/кг	Полнота определения, %
Клубни картофеля	0,01	0,0080 ± 0,0005	79,8
	0,02	0,0160 ± 0,0011	81,4
	0,05	0,0447 ± 0,0039	89,5
	0,10	0,0834 ± 0,0095	83,4