

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

**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

Тираж 125 экз.

Печ. л. 1,25

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

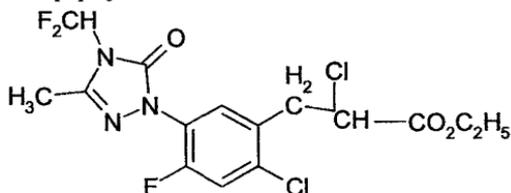
Свидетельство о метрологической аттестации РОСС RU.0001.310430/0217.16.10.14 от 16.10.2014.

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-1H-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: $K_{ow} \log P = 2,5$ при 20 °С.

Растворимость в воде (мг/дм³): 12—30 (в зависимости от рН).

Растворимость в органических растворителях (г/дм³, 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 рН 5; при рН 7 гидролизуеться на 50 % за 13,7 дней, а при рН 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 полураспада составляет 0,55—0,58 сут.

Краткая токсикологическая характеристика. Карфентразон–этил относится к веществам малоопасным по острой пероральной (ЛД₅₀ для крыс – 5 143 мг/кг) и дермальной токсичности (ЛД₅₀ для крыс – более 4 000 мг/кг), но к умеренно опасным по ингаляционной токсичности (ЛД₅₀ (4 часа) для крыс более 5 000 мг/м³). Слабо раздражает кожу и конъюнктиву.

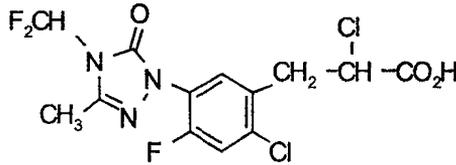
Область применения. Карфентразон–этил – гербицид из группы триазилинов системного действия, хорошо проникающий в растения через листья, но слабо передвигающийся по растению. Механизм действия связан с ингибированием активности протопорфириногенаксидазы. Высокоэффективен против широкого спектра двудольных 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/дм³; ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,01 мг/м³; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,4 мг/м³; 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-1H-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), $\pm \delta$, % $P = 0,95$	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, \pm , %
Клубни картофеля	0,01	0,01—0,10	83,52	7,77	3,04

2. Метод измерения

Остаточное количество 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 $\pm 0,038$ г
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 см³ ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 10 мм³ со шкалой деления 0,1 мм³ и погрешностью измерения вытесняемого объема ± 1 %

Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см³ 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 см³

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

n-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 серноокислый, 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 нагрузкой 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 см³

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/дм³. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ 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/дм³. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ аппарата для перегонки растворителей, добавляют туда марганцовокислый калий из расчета 100 мг/дм³. 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 см³ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм³ 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/дм³. Выдерживают его над осушителем в течение 12—24 часов. Затем хлористый метилен сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ 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/дм³. Выдерживают

его над осушителем в течение 12—24 часов. Затем этилацетат сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см³ 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 см³ концентрированной серной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 1 000 см³, куда предварительно наливают около 300 см³ 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 см³ концентрированной серной кислоты и осторожно переносят в мерную колбу на 100 см³, куда предварительно наливают около 60 см³ 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/см³. Взвешивают 50 мг карфентразона в мерной колбе объемом 50 см³. 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/см³. Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ 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/см³. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 100 см³ 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/см³*. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ 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/см³*. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 2 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ 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/см³*. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ 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/см³*. Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ 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/см³*. Из стандартного раствора № 5 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ 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/см³*. Из стандартного раствора № 6 отбирают пипеткой 1 см³, помещают в мерную колбу объемом 10 см³ 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 вials объемом 40 см³ помещают по 1 см³ 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 см³ 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 см³ гексана и 15—25 см³ бидистиллированной воды. Смесь интенсивно встряхивают и после разделения фаз в виале из верхнего (гексанового) слоя 1 мм³ вводят в хроматограф.

7.4. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации карфентразона в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 мкг/см³.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм³ 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 см³ этилацетата, затем 20 см³ гексана

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

В концентратор объемом 100 см³ вносят 1 см³ стандартного раствора бутилового эфира карфентразона в гексане с концентрацией 0,1 мкг/см³ и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 см³ гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят на подготовленную колонку. Элюат собирают в концентратор объемом по 100 см³ и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Исходную колбу обмывают сначала 20 см³ гексана, затем 10 см³ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 95 : 5, а затем еще тремя

порциями смеси гексана с этилацетатом в соотношении 8 : 2 объемом 10 см³ каждая и последовательно вносят их на колонку. Каждую порцию собирают отдельно в концентраторы объемом по 100 см³ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток каждой фракции растворяют в 1 см³ гексана и 1 мм³ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие карфентразон, полноту смыывания с колонки и необходимый объем 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, заготавливаемый 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 см³, добавляют 50 см³ 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 см³. Экстракцию повторяют еще один раз в тех же условиях. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 см³ 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 см³ дистиллированной воды и доводят значение pH до 1—2,

добавляя 4 н серную кислоту. Перемешивают содержимое концентратора и переносят в делительную воронку объемом 250 см³. Добавляют в делительную воронку 5 г хлористого натрия, перемешивают содержимое воронки.

Карфентразон экстрагируют тремя порциями хлористого метилена по 30 см³, встряхивая каждый раз делительную воронку в течении 2 минут. Хлористый метилен собирают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 см³ 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 см³ хлористого метилена, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят его в виалу. Процедуру повторяют еще 2 раза, используя по 2 см³ хлористого метилена. Растворитель удаляют током теплого воздуха и проводят бутилирование.

К сухому остатку в виале прибавляют 1,5 см³ 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 см³ гексана и 15—25 см³ 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 см³ и наносят на заранее подготовленную колонку с флоризилом.

Исходную колбу обмывают сначала 20 см³ гексана, затем 10 см³ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 95 : 5, элюаты отбрасывают.

Карфентразон элюируют с колонки 15 см³ смеси гексана с этилацетатом в соотношении 8 : 2. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см³ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 5 см³ гексана и 1 мм³ 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 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:

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

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

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

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

A – концентрация карфентразона в бутилированном стандартном растворе, мкг/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

m – масса анализируемого образца, г;

P – содержание карфентразона в аналитическом стандарте, %.

K – 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):

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг или мг/дм³;

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:

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

\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/см³.

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/см³;
 C – известная концентрация градуировочного раствора карфентразона в гексане, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см³;

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_0 должна удовлетворять условию:

$$C_0 = \Delta_{\text{н.}\bar{X}} + \Delta_{\text{н.}\bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{\text{н.}\bar{X}}$ ($\pm \Delta_{\text{н.}\bar{X}'}$) – 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:

$$\Delta_{\text{н.}} = \pm 0,84 \Delta, \text{ где}$$

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_k рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C_o, \text{ где}$$

\bar{X}' , \bar{X} , C_o – 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:

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

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

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

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

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