

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств  
аметоктрадина в воде, почве, огурцах,  
салате, луке-репке, моркови, томатах,  
клубнях и зеленой массе картофеля,  
винограде и виноградном соке  
методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

Методические указания  
МУК 4.1.3130—13

Издание официальное

Москва • 2014

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

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Определение остаточных количеств  
аметоктрадина в воде, почве, огурцах, салате,  
луке-репке, моркови, томатах, клубнях и  
зеленой массе картофеля, винограде и  
виноградном соке методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.3130—13**

ББК 51.21+51.23

О60

**О60** **Определение** остаточных количеств аметоктрадина в воде, почве, огурцах, салате, луке-репке, моркови, томатах, клубнях и зеленой массе картофеля, винограде и виноградном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.—16 с.

ISBN 978—5—7508—1314—8

1. Разработаны ГПУ Всероссийский НИИ защиты растений Россельхозакадемии (В. И. Долженко, И. А. Цибульская, Т. Д. Черменская, А. С. Комарова, В. В. Человечкова); ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (М. С. Орлов).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 29 октября 2013 г. № 3).

3. Утверждены врио руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главного государственного санитарного врача Российской Федерации А. Ю. Поповой 12 ноября 2013 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.21+51.23**

Редактор Н. В. Кожока  
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 25.09.14

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 1,0  
Заказ 58

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  
отделом издательского обеспечения  
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора  
117105, Москва, Варшавское ш., 19а  
Отделение реализации, тел./факс 8(495)952-50-89

© Роспотребнадзор, 2014

© Федеральный центр гигиены и  
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014

## УТВЕРЖДАЮ

Врио руководителя Федеральной службы  
по надзору в сфере защиты прав  
потребителей и благополучия человека,  
Главного государственного санитарного  
врача Российской Федерации

А. Ю. Попова

12 ноября 2013 г.

## 4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств аметоктрадина  
в воде, почве, огурцах, салате, луке-репке, моркови,  
томатах, клубнях и зеленой массе картофеля, винограде  
и виноградном соке методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.3130—13**

Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.129/01.  
00043/2013.

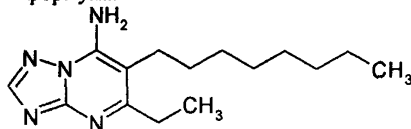
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации аметоктрадина в воде в диапазоне концентраций 0,001—0,01 мг/дм<sup>3</sup>, в почве, огурцах, луке-репке, моркови, томатах, клубнях и зеленой массе картофеля, винограде и виноградном соке в диапазоне концентраций 0,01—0,1 мг/кг, в салате в диапазоне концентраций 0,005—0,05 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: аметоктрадин.

Название действующего вещества по ИЮПАК: 6-октил-5-этил-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин-7-амин.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>.

Молекулярная масса: 275,39.

Химически чистое вещество представляет собой кристаллический порошок бежевого цвета без запаха.

Температура плавления: 198 °С.

Коэффициент распределения в системе *n*-октанол–вода  $K_{ow} \lg P > 4,4$  (20 °С).

Растворимость в воде (мг/дм<sup>3</sup>, 20 °С): 0,15.

Растворимость в органических растворителях (г/дм<sup>3</sup>, 20 °С): диметилсульфоксид – 10,7, метанол – 7,2, дихлорметан – 3,0, ацетон – 1,9, этилацетат – 0,8, ацетонитрил – 0,5, толуол – 0,1, *n*-гептан – 0,01.

*Краткая токсикологическая характеристика:*

Острая пероральная токсичность ЛД<sub>50</sub> > 2 000 мг/кг массы тела. Острая кожная токсичность ЛД<sub>50</sub> > 2 000 мг/кг массы тела. Острая ингаляционная токсичность ЛК<sub>50</sub> (4 ч) > 5,3 мг/л. Раздражающее действие для кроликов: кожа – не раздражает; глаза – не раздражает.

Сенсибилизация – не обладает.

*Область применения:* системный высокоизбирательный фунгицид, применяется на овощах и винограде против фитофтороза, переноспороза, бремия и др.

В России для аметоктрадина гигиенические нормативы не установлены.

### 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.

Таблица 1

Метрологические параметры

| Объект анализа | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм <sup>3</sup> ) | Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r$ , % | Показатель внутривлабораторной прецизионности, $\sigma_{RL}$ , % | Показатель воспроизводимости, $\sigma_R$ , % | Показатель точности* (границы относительной погрешности), $\pm \delta$ , % |
|----------------|---|--|--|--|--|
| 1              | 2   | 3  | 4  | 5  | 6  |
| Вода           | 0,001—0,01  | 8  | 9  | 11   | 22   |
| Почва          | 0,01—0,1  | 7  | 9  | 12   | 23   |
| Огурцы         | 0,01—0,1  | 7  | 9  | 12   | 23   |
| Салат          | 0,005—0,05  | 9  | 11   | 12   | 24   |
| Лук-репка      | 0,01—0,1  | 9  | 11   | 12   | 24   |
| Томаты         | 0,01—0,1  | 9  | 11   | 12   | 24   |

Продолжение табл. 1

| 1                       | 2        | 3 | 4  | 5  | 6  |
|-------------------------|----------|---|----|----|----|
| Морковь                 | 0,01—0,1 | 7 | 9  | 12 | 23 |
| Зеленая масса картофеля | 0,01—0,1 | 9 | 11 | 12 | 24 |
| Клубни картофеля        | 0,01—0,1 | 8 | 9  | 11 | 22 |
| Виноград                | 0,01—0,1 | 9 | 11 | 12 | 24 |
| Виноградный сок         | 0,01—0,1 | 7 | 9  | 12 | 23 |

\* Соответствует расширенной неопределенности  $U_{отн}$  при коэффициенте охвата  $k = 2$

Таблица 2

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

| Анализируемый объект    | Предел обнаружения, мг/кг (мг/дм <sup>3</sup> ) | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм <sup>3</sup> ) | Полнота извлечения, % | Стандартное отклонение, $S$ | Доверительный интервал среднего результата, $\pm$ % |
|-------------------------|---|---|-----------------------|-----------------------------|---|
| Вода                    | 0,001   | 0,001—0,01  | 91,9                  | 1,60                        | 0,80  |
| Почва                   | 0,01  | 0,01—0,1  | 88,9                  | 2,16                        | 1,08  |
| Огурцы                  | 0,01  | 0,01—0,1  | 78,9                  | 2,92                        | 1,46  |
| Салат                   | 0,005   | 0,005—0,05  | 85,7                  | 7,05                        | 3,53  |
| Лук-репка               | 0,01  | 0,01—0,1  | 81,0                  | 4,31                        | 2,16  |
| Томаты                  | 0,01  | 0,01—0,1  | 86,2                  | 5,99                        | 2,99  |
| Морковь                 | 0,01  | 0,01—0,1  | 78,2                  | 2,08                        | 1,04  |
| Зеленая масса картофеля | 0,01  | 0,01—0,1  | 89,6                  | 3,74                        | 1,87  |
| Клубни картофеля        | 0,01  | 0,01—0,1  | 79,2                  | 1,86                        | 0,93  |
| Виноград                | 0,01  | 0,01—0,1  | 90,7                  | 4,62                        | 2,31  |
| Виноградный сок         | 0,01  | 0,01—0,1  | 92,0                  | 3,23                        | 1,62  |

## 2. Метод измерений

Методика основана на определении аметоктрадина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его извлечения из образцов водно-ацетоновой смесью, очистки перераспределением в системе несмеси-

вающихся растворителей и последующей очистки на патроне для твердофазной экстракции.

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

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

### 3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

#### 3.1. Средства измерений

Высокоэффективный жидкостный хроматограф с быстросканирующим ультрафиолетовым детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки

Весы аналитические с пределом взвешивания до 210 г и пределом допустимой погрешности 0,2 мг

ГОСТ 24104—01

Весы технические с пределом взвешивания до 400 г и допустимой погрешностью 0,1 г  
Колбы мерные на 10, 100 и 1 000 см<sup>3</sup>

ГОСТ 24104—01

ГОСТ 23932—90

Микродозаторы одноканальные переменного объема от 200 до 1 000 мм<sup>3</sup> и от 1 до 5 см<sup>3</sup>

Цилиндры мерные на 50 и 100 см<sup>3</sup>

ГОСТ 23932—90

**Примечание.** Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

#### 3.2. Реактивы

Аметоктрадин с содержанием основного вещества 99,7 %

Ацетон, осч

ТУ 6-09-3513—86

Ацетонитрил, хч

ТУ 6-09-3534—87

Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)

ГОСТ Р 52501—05

n-Гексан, хч

ТУ 6-09-3375—78

Кислота ортофосфорная, хч

ГОСТ 6552—80

Магний серно-кислый семиводный, хч

ГОСТ 4523—77

Метилен хлористый, хч

ТУ 2631-019-44493179—98

Натрия гидроксид, хч

ГОСТ 4328—77

Натрий серно-кислый безводный, хч                   ГОСТ 4166—76  
 Натрий хлористый, чда                                   ГОСТ 4233—77  
 Смесь № 1: гексан—ацетон в соотношении 9 : 1  
 по объему  
 Смесь № 2: гексан—ацетон в соотношении 4 : 1  
 по объему  
 Смесь № 3: ацетон—вода в соотношении 3 : 1  
 по объему  
 Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрила  
 и 0,005 М раствора ортофосфорной кислоты в  
 соотношении 35 : 65.

**Примечание.** Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующих дополнительной очистки растворителей.

### *3.3. Вспомогательные устройства и материалы*

Аналитическая колонка для неионогенных  
 среднеполярных соединений (100 × 2,1) мм,  
 1,7 мкм  
 Аппарат для встряхивания                           ТУ 64-1-1081—73  
 Воронки лабораторные                               ГОСТ 25336—82  
 Воронки делительные вместимостью 250 см<sup>3</sup>   ГОСТ 25336—82  
 Колбы круглодонные на шлифе вместимостью  
 10, 25, 100 см<sup>3</sup>                                       ГОСТ 9737—93  
 Колбы плоскодонные конические вместимо-  
 стью 100 см<sup>3</sup>                                       ГОСТ 25336—82  
 Патроны аминфазные ионообменные           ТУ 4215-002-05451931—94  
 Пробирки полипропиленовые центрифужные  
 с крышками объемом 50 см<sup>3</sup>  
 Ротационный вакуумный испаритель с мем-  
 бранным насосом, обеспечивающим вакуум до  
 10 мбар  
 Стаканы химические вместимостью 150 см<sup>3</sup>   ГОСТ 25336—82  
 Ультразвуковая ванна с рабочей частотой 35 кГц  
 Фильтры бумажные быстрой фильтрации   ТУ 6.091678—86  
 Центрифуга с максимальной рабочей частотой  
 вращения 4 000 об./мин

**Примечание.** Допускается применение 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 по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—2009, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07.

Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

#### **5. Требования к квалификации операторов**

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоскоростной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

#### **6. Условия измерений**

При выполнении измерений выполняются следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха ( $20 \pm 5$ ) °С и относительной влажности не более 80 %;
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

#### **7. Подготовка к определению**

##### **7.1. Кондиционирование колонки**

Перед началом анализа колонку кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,1—0,2 см<sup>3</sup>/мин) до стабилизации нулевой линии.

### **7.3. Кондиционирование патрона для твердофазной экстракции**

Патрон для удаления кислотных компонентов пробы (слабоосновный анионообменник с привитыми аминогруппами) промывают 2 см<sup>3</sup> смеси № 2, затем 3 см<sup>3</sup> смеси № 1.

### **7.2. Приготовление растворов**

7.3.1. 0,005 М раствор ортофосфорной кислоты: (0,5 ± 0,01) г 98 % ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 дм<sup>3</sup>, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.3.2. Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с 0,005 М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65 по объёму, используя мерные цилиндры.

7.3.3. 20 %-й раствор натрия хлористого: в мерную колбу объемом 1 дм<sup>3</sup> помещают 200 г натрия хлористого, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

7.3.4. 0,2 М раствор натрия гидроксида: 8,0 г натрия гидроксида помещают в мерную колбу объемом 1 дм<sup>3</sup>, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

### **7.4. Приготовление основного и градуировочных растворов**

7.4.1. Основной раствор с концентрацией 0,5 мг/см<sup>3</sup>: точную навеску аметоктрадина (50 ± 0,5) мг помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, растворяют в метаноле и доводят объем до метки метанолом.

#### **7.4.2. Приготовление градуировочных растворов**

Градуировочные растворы с концентрациями аметоктрадина 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мкг/см<sup>3</sup> готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65).

7.4.2.1. Раствор № 1 с концентрацией 1,0 мкг/см<sup>3</sup>: в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 0,2 см<sup>3</sup> основного раствора и доводят до метки подвижной фазой.

7.4.2.2. Раствор № 2 с концентрацией 0,5 мкг/см<sup>3</sup>: в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 5,0 см<sup>3</sup> раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.4.2.3. Раствор № 3 с концентрацией 0,2 мкг/см<sup>3</sup>: в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 2 см<sup>3</sup> раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.4.2.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,1 мкг/см<sup>3</sup>: в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 1 см<sup>3</sup> раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.4.2.5. *Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см<sup>3</sup>*: в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 0,5 см<sup>3</sup> раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

Основной раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение недели.

При изучении полноты определения аметоктрадина в воде, почве, огурцах, салате, луке-репке, моркови, томатах, клубнях и зеленой массе картофеля, винограде и виноградном соке используют ацетонитрильные растворы вещества, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

### 7.5. Построение градуировочного графика

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация аметоктрадина в растворе) в хроматограф вводят по 10 мм<sup>3</sup> градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации аметоктрадина в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент ( $K$ ) в уравнении линейной регрессии:

$$C = K \cdot S, \text{ где}$$

$S$  – площадь пика градуировочного раствора.

Градуировку признают удовлетворительной, если значение коэффициента линейной корреляции оказывается не ниже 0,99.

Градуировочную характеристику необходимо проверять при замене реактивов, хроматографической колонки или элементов хроматографической системы, а также при отрицательном результате контроля градуировочного коэффициента.

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

$$\frac{|C - C_k|}{C} \cdot 100 \leq \lambda_{\text{контр}}, \text{ где}$$

$C$  – аттестованное значение массовой концентрации аметоктрадина в градуировочном растворе;

$C_k$  – результат контрольного измерения массовой концентрации аметоктрадина в градуировочном растворе;

$\lambda_{\text{контр.}}$  — норматив контроля градуировочного коэффициента, %  
 ( $\lambda_{\text{контр.}} = 10\%$  при  $P = 0,95$ ).

### 7.6. Проверка хроматографического поведения аметоктрадина на патроне

В круглодонную колбу емкостью 10 см<sup>3</sup> отбирают 1 см<sup>3</sup> стандартного раствора аметоктрадина с концентрацией 1 мкг/см<sup>3</sup>. Отдувают растворитель током воздуха. Остаток растворяют в 1 см<sup>3</sup> смеси № 1 и переносят на подготовленный патрон (п. 7.2). Колбу обмывают 1 см<sup>3</sup> смеси № 1 и смыв тоже переносят на патрон. Промывают патрон 3 см<sup>3</sup> смеси № 1, элюат отбрасывают. Затем элюируют аметоктрадин смесью № 2 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 см<sup>3</sup>, упаривают досуха, растворяют в 1 см<sup>3</sup> подвижной фазы (ацетонитрил — 0,005 М раствор ортофосфорной кислоты, 35 : 65) и анализируют по п. 9.6.

Фракции, содержащие аметоктрадин, объединяют и вновь анализируют.

Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с патрона и необходимый для очистки объем элюата.

**Примечание.** Проверку хроматографического поведения аметоктрадина следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может измениться при использовании новой партии патронов и растворителей.

## 8. Отбор проб и хранение

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79), а также в соответствии с ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб»; ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб». Отбор проб овощей производится в соответствии с техническими условиями по ГОСТ 1726—85 «Огурцы свежие»; ГОСТ 27166—86 «Лук репчатый свежий, заготавливаемый и поставляемый»; ГОСТ 1721—85 «Морковь столовая свежая, заготавливаемая и поставляемая»; ГОСТ 1725—85 «Томаты свежие»; ГОСТ 7194—81 «Картофель свежий. Правила приемки и методы определения качества». Отбор проб винограда проводится в соответствии с техническими условиями по ГОСТ 25896—83 «Виноград свежий столовый». Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Перед анализом сухую почву доводят до стандартной влажности, просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Пробы

овощей и винограда хранят до анализа в герметичной полиэтиленовой упаковке в морозильной камере при  $-18^{\circ}\text{C}$ .

## 9. Проведение определения

### 9.1. Экстракция аметоктрадина из воды

Пробу воды  $100\text{ см}^3$  помещают в делительную воронку вместимостью  $250\text{ см}^3$ , добавляют  $30\text{ см}^3$  хлористого метилена и интенсивно встряхивают 2—3 мин. После полного разделения фаз нижний органический слой отбирают, к водному добавляют  $30\text{ см}^3$  хлористого метилена и экстракцию повторяют. Объединенные органические фракции пропускают через воронку, содержащую безводный натрий серно-кислый, и собирают в круглодонную колбу вместимостью  $25\text{ см}^3$ . Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше  $40^{\circ}\text{C}$ . Сухой остаток растворяют в  $1\text{ см}^3$  подвижной фазы и  $10\text{ мм}^3$  вводят в хроматограф.

### 9.2. Экстракция аметоктрадина из почвы

Навеску измельченной почвы  $10\text{ г}$  помещают в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью  $50\text{ см}^3$ , последовательно добавляют  $5\text{ см}^3$  воды,  $10\text{ см}^3$  ацетонитрила,  $8\text{ г}$  семиводного магния сернокислого и  $1\text{ г}$  натрия хлористого. Пробирку плотно закрывают и помещают в аппарат для встряхивания на  $10\text{ мин}$ , затем центрифугируют в течение  $10\text{ мин}$  при скорости  $4\,000\text{ об./мин}$ . От верхнего ацетонитрильного слоя отбирают аликвоту  $5\text{ см}^3$ , переносят в круглодонную колбу вместимостью  $25\text{ см}^3$ . Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше  $40^{\circ}\text{C}$ . Сухой остаток подвергают очистке по п. 9.5.

### 9.3. Экстракция аметоктрадина из огурцов, салата, лука-репки, моркови, томатов, винограда, зеленой массы и клубней картофеля

Навеску измельченной культуры ( $5\text{ г}$  — зеленая масса картофеля,  $10\text{ г}$  — огурцы, салат, лук-репка, морковь, томаты, виноград, клубни картофеля) помещают в коническую колбу вместимостью  $100\text{ см}^3$ , добавляют  $30\text{ см}^3$  смеси № 3 и колбу помещают в ультразвуковую ванну на  $10\text{ мин}$ . Водноацетоновый экстракт декантируют в круглодонную колбу вместимостью  $100\text{ см}^3$ , пропуская через бумажный фильтр быстрой фильтрации, к остатку в колбе добавляют  $20\text{ см}^3$  смеси № 3 и повторяют экстракцию. Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка, добавляют  $20\text{ см}^3$  20 %-го водного раствора натрия хлористого, доводят объем до  $100\text{ см}^3$  0,2 М раство-

ром натрия гидроксида и переносят в делительную воронку вместимостью 250 см<sup>3</sup>, добавляют 30 см<sup>3</sup> хлористого метилена и интенсивно встряхивают 2—3 мин. После полного разделения фаз нижний органический слой отбирают, к водному добавляют 30 см<sup>3</sup> хлористого метилена и экстракцию повторяют. Объединенные органические фракции промывают в делительной воронке 20 см<sup>3</sup> 0,2 М раствора натрия гидроксида, собирают в круглодонную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, пропуская через воронку, содержащую безводный натрий серно-кислый. Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток подвергают очистке на патроне по п. 9.5.

#### *9.4. Экстракция аметоктрадина из виноградного сока*

Навеску 10 г сока помещают в стакан вместимостью 150 см<sup>3</sup>, добавляют 20 см<sup>3</sup> 20 %-го водного раствора натрия хлористого, доводят объем до 100 см<sup>3</sup> 0,2 М раствором натрия гидроксида и переносят в делительную воронку вместимостью 250 см<sup>3</sup>, добавляют 30 см<sup>3</sup> хлористого метилена и интенсивно встряхивают 2—3 мин. После полного разделения фаз нижний органический слой отбирают, к водному добавляют 30 см<sup>3</sup> хлористого метилена и экстракцию повторяют. Объединенные органические фракции промывают в делительной воронке 20 см<sup>3</sup> 0,2 М раствора натрия гидроксида, собирают в круглодонную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, пропуская через воронку, содержащую безводный натрий серно-кислый. Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток подвергают очистке на патроне по п. 9.5.

#### *9.5. Очистка на аминофазном ионообменном патроне*

Сухой остаток, полученный по пп. 9.2—9.4, растворяют в 1 см<sup>3</sup> смеси № 1, наносят на предварительно кондиционированный патрон (п. 7.2), колбу ополаскивают 1 см<sup>3</sup> смеси № 1 и также наносят на патрон. Патрон промывают 3 см<sup>3</sup> смеси № 1, элюат отбрасывают. Аметоктрадин элюируют 5 см<sup>3</sup> смеси № 2, элюат собирают, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, остаток растворяют в подвижной фазе (0,5 см<sup>3</sup> — почва; 1 см<sup>3</sup> — огурцы, салат, лук-репка, морковь, томаты, клубни и зеленая масса картофеля, виноград и виноградный сок) и 10 мм<sup>3</sup> вводят в хроматограф.

#### *9.6. Условия хроматографирования*

Ультраэффективный жидкостный хроматограф с быстросканирующим ультрафиолетовым детектором, снабженный дегазатором, автома-

тическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка для неионогенных среднеполярных соединений ( $2,1 \times 100$ ) мм, 1,7 мкм. Температура колонки ( $30 \pm 1$ ) °С. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 35 : 65. Скорость потока элюента: 0,2 см<sup>3</sup>/мин. Рабочая длина волны ультрафиолетового детектора 295 нм. Объем вводимой пробы 10 мм<sup>3</sup>.

### 10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание аметоктрадина в пробе ( $X$ , мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot K \cdot V}{P} \cdot \frac{100}{f}, \text{ где}$$

$S_x$  – площадь пика аметоктрадина на хроматограмме испытуемого образца, мм<sup>2</sup> (AU);

$K$  – градуировочный коэффициент, найденный на стадии построения соответствующей градуировочной зависимости;

$V$  – объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, см<sup>3</sup>;

$P$  – навеска анализируемого образца, г;

$f$  – полнота извлечения аметоктрадина, приведенная в табл. 2, %.

Содержание остаточных количеств аметоктрадина в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор аметоктрадина с концентрацией 1,0 мкг/см<sup>3</sup>, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

### 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;

$r$  – значение предела повторяемости ( $r = 2,8\sigma_r$ ).

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

## 12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

$\Delta$  – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

*«содержание вещества в пробе менее нижней границы определения» (например: менее 0,005 мг/кг\*, где \* – 0,005 мг/кг – предел обнаружения аметоктрадина в салате).*

## 13. 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  $C_d$  должна удовлетворять условию:

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

$\pm \Delta_{n,x}$  ( $\pm \Delta_{n,x'}$ ) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой, соответственно), мг/кг; при этом:

$$\Delta_n = \pm 0,84 \Delta, \text{ где}$$

$\Delta$  – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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



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

Результат контроля процедуры  $K_k$  рассчитывают по формуле:

$$K_k = X' - X - C_0, \text{ где}$$

$X'$ ,  $X$ ,  $C_0$  – 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:

$$K = \sqrt{\Delta_{i,X'}^2 + \Delta_{i,X}^2} \quad (2)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_k| \leq K, \quad (3)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (3) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (3) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры к 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 ( $R$ ):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq R, \text{ где} \quad (4)$$

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

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