Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств изопиразама в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков, яблоках и яблочном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3277—15

Издание официальное

Москва • 2016

группа научной сферы

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств изопиразама в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков, яблоках и яблочном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3277—15

ББК 51.23
О62

О62 **Определение** остаточных количеств изопиразама в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков, яблоках и яблочном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—22 с.

ISBN 978—5—7508—1448—0

1. Разработаны сотрудниками ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Т. В. Юдина, О. Е. Егорченкова, В. М. Волков).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 мая 2015 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 24 июня 2015 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1448—0

© Роспотребнадзор, 2016
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
24 июня 2015 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств изопиразама в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков, яблоках и яблочном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3277—15

Свидетельство об аттестации МВИ № РОСС RU.0001.310430/0207.31.07.14 от 31.07.14.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для измерения концентраций изопиразама в воде в диапазоне 0,0005—0,005 мг/дм^3, в почве, зерне, яблоках, яблочном соке в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг, в соломе хлебных злаков в диапазоне 0,04—0,4 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

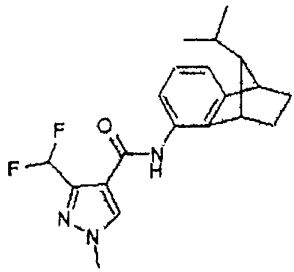
Изопиразам

Химический класс: карбоксимиды.

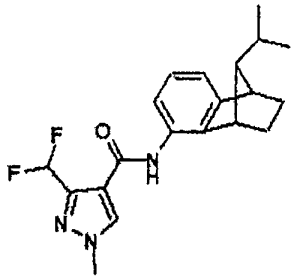
Смесь син- и анти-изомеров:

-3-(дифторометил)-1-метил-N-[(1RS,4SR,9RS)-1,2,3,4,-тетрагидро-9-изопропил-1,4-метанонафталин-5-ил]пиразол-4-карбоксамид;

-3-(дифторометил)-1-метил-N-[(1RS,4SR,9RS)-1,2,3,4,-тетрагидро-9-изопропил-1,4-метанонафталин-5-ил]пиразол-4-карбоксамид (IUPAC).



syn-isomer (SYN 534969)



anti-isomer (SYN 534968)

Эмпирическая формула: $C_{20}H_{23}F_2N_3O$.

Молекулярная масса: 359,4.

Беловатый порошок без запаха. Плотность 1,332 г/см^3 при 20 °С. Температура плавления: син-изомер 130,2 °С, анти-изомер 144,5 °С. Температура кипения: термическое разложение начинается при температуре более 274 °С, до достижения точки кипения. Давление паров при 25 °С: $3{,}32 \times 10^{-5}$ мПа. Растворимость в органических растворителях (в г/дм^3): ацетон – 314; дихлорметан – 330; этилацетат – 179; метанол – 119; толуол – 77,1; н-октанол – 44,1; гексан – 1,17. Растворимость в воде (в мг/ дм^3 при 25 °С): син-изомер – 0,55; анти-изомер – 1,05. Коэффициент распределения н-октанол/вода: Kow log P = 4,1 (син-изомер), Kow log P = 4,4 (анти-изомер). Гидролитически стабилен при температуре 25 °С и pH 5,7 и 9 ($ДТ_{50}$ = 30 дней).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая оральная токсичность (LD_{50}) (син : анти – 70 : 30) для крыс > 2 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс > 5,28 мг/м^3.

Область применения

Изопиразам – фунгицид, обладающий контактной активностью с необратимым связыванием с листовой поверхностью, ингибирует рост мицелия в тканях растений, предотвращает спорообразование. Предназначен для защиты плодовых культур от комплекса грибов-патогенов.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентируемых условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерения при доверительной вероятности

$P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), $+\delta$, %, $P = 0,95$	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, %
Вода	от 0,0005 до 0,005 вкл.	50	7,6	11	21	30
Почва	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	6,1	9	17	24
Зерно	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,1	4	9	12
Солома хлебных злаков	от 0,04 до 0,4 вкл.	50	4,7	7	13	18
Яблоки (плоды)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	4,4	6	12	17
Яблочный сок	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,9	6	11	15

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для всего диапазона измерений ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/дм^3, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,0005	0,0005—0,005	88,5	11,3	7,3
Почва	0,01	0,01—0,1	91,9	7,4	6,7
Зерно	0,01	0,01—0,1	98,9	3,4	3,2
Солома хлебных злаков	0,04	0,04—0,4	80,8	5,2	5,3
Яблоки (плоды)	0,01	0,01—0,1	94,3	5,5	5,2
Яблочный сок	0,01	0,01—0,1	92,9	6,2	3,9

2. Метод измерений

Метод основан на определении изопиразама с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с масс-селективным (МСД) детектором после извлечения вещества из анализируемых образцов смесью ацетонитрил–вода (80 : 20, по объему), очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и далее на концентрирующих патронах для твердофазной экстракции.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф, снабженный масс-селективным детектором, электронозахватным детектором с пределом детектирования по линдану $3{,}5 \cdot 10^{-14}$ г/с и автоматическим пробоотборником, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	
Весы аналитические, с пределом взвешивания 110 г и пределом допустимой погрешности 0,001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 420 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные 2-го класса точности, вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100, 250 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Микрошприц, вместимостью 10 $мм^3$	
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 $см^3$	ГОСТ 29227—91

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

3.2. Реактивы

Изопиразам, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,4 %

Азот газообразный (чистота 99,999 %), в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Гелий газообразный вч, в баллонах	ТУ 0271-001-45905715—02
н-Гексан (гексан), для хроматографии	ТУ 6-09-06-657—84
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Калий марганцово-кислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота соляная (хлороводородная), концентрированная (37 %), хч	ГОСТ 6552—80
Метанол (метиловый спирт), хч	ГОСТ 6995—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—84
Натрий серно-кислый (сульфат) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый (хлорид натрия), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
Натрий гидроксид (натр едкий), чда	ГОСТ 4328—77
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора), хч	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

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

3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства, материалы

Аппарат для встряхивания	ТУ 64-1-2851—78
Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст. и с пределом допустимой погрешности (1 ± 2,5) мм рт. ст.	
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	ТУ 2504-1799—75
Баня водяная	
Бумага индикаторная универсальная	ТУ 6-09-1181—89
Бумажные фильтры средней и высокой плотности	ТУ 2642-001-05015242—07

Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Гомогенизатор бытовой	
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 150 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Патроны концентрирующие для твердофазной экстракции, содержащие 360 мг обращенно-фазного сорбента на основе октадецилсилана (патрон № 1)	
Патроны концентрирующие для твердофазной экстракции, содержащие 360 мг силикагеля (патрон № 2)	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	ГОСТ 25336—82
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающий вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические с носиком, вместимостью 100, 150 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Сито с диаметром отверстий 1мм	
Стеклянные палочки	
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 14 % – цианпропилфенил- и 86 % – диметилполисилоксана, толщина пленки сорбента 0,25 мкм	
Хроматографическая капиллярная кварцевая колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенил- и	

95 % – диметилполисилоксана, толщина пленки сорбента 0,25 мкм

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 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 на должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см^2), необходимо соблюдать «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576-03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, прошедших обучение, освоивших методику, владеющих техникой, имеющих опыт работы на газовом хроматографе и подтвердивших соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, раствора внесения, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для экстракции и очистки экстрактов на патронах, проверка поведения вещества на них, подготовка концентрирующих патронов.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. Ацетонитрил

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 $дм^3$ ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 $дм^3$ ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.1.3. н-Гексан

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.4. Этилацетат

7.1.4.1. Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %. Навеску (25 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

7.1.4.2. Очистка растворителя. Растворитель промывают последовательно 5 %-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30. Хранят в темноте (в емкости из темного стекла) не более месяца.

7.1.5. Хлористый метилен

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.2. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.2.1. Исходный раствор изопиразама для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,01 г изопиразама, растворяют в 50—60 см^3 ацетона, доводят ацетоном до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 6 месяцев.

7.2.2. Рабочий раствор № 1 изопиразама для градуировки и внесения (концентрация 10,0 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10,0 см^3 исходного градуировочного раствора с концентрацией 100,0 мкг/см^3 (п. 7.2.1), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочий растворы № 1 с концентрацией изопиразама 10,0 мкг/см^3.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено» и контроля качества результатов измерений методом добавок.

7.2.3. Рабочие растворы № 2—5 изопиразама для градуировки (концентрация 0,05—0,5 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0 см^3 рабочего раствора № 1 с концентрацией 10,0 мкг/см^3 (п. 7.2.2), доводят до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрациями изопиразама 0,05; 0,1, 0,2 и 0,5 мкг/см^3.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 14 дней.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади пика от концентрации изопиразама в растворе, устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В испаритель хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.6.

Осуществляют не менее 5 параллельных измерений. Устанавливают площади пика изопиразама, на основании которых строят градуировочную зависимость. Градуировочный график проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значения площадей отличаются более, чем на 10 % от параметров градуировочной характеристики, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.4. Приготовление 10 %-го раствора гидроксида натрия

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 г гидроксида натрия, растворяют в 60—70 $см^3$ деионизованной воды, доводят водой до метки, перемешивают. Хранят в емкости из пропилена не более 3 месяцев.

7.5. Приготовление 2 М раствора соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 500 $см^3$ помещают 200—250 $см^3$ деионизованной воды, вносят 83 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают. Срок хранение не более 3 месяцев.

7.6. Приготовление раствора марганцово-кислого калия с массовой долей 0,1 % (0,1 %-й раствор)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,1 г марганцово-кислого калия, растворяют в 50—70 $см^3$ деионизованной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Хранят в емкости из темного стекла не более двух недель.

7.7. Приготовление смесей ацетонитрил–вода для очистки водных образцов на концентрирующих патронах № 1

7.7.1. Смесь ацетонитрил–вода (объемное соотношение 80 : 20). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 80 $см^3$ ацетонитрила и 20 $см^3$ воды, перемешивают.

7.7.2. Смесь ацетонитрил–вода (объемное соотношение 25 : 75). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 25 $см^3$ ацетонитрила и 75 $см^3$ воды, перемешивают.

7.8. Приготовление смеси гексан–этилацетат для очистки экстрактов на концентрирующих патронах №2

7.8.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 90 : 10). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 90 $см^3$ гексана и 10 $см^3$ этилацетата, перемешивают.

7.8.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 80 : 20). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 80 см^3 гексана и 20 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.8.3. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 1 : 1). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 50 см^3 гексана и 50 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.9. Подготовка концентрирующих патронов № 1

Патрон № 1 устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума*. Сверху в патрон устанавливают стеклянную пипетку вместимостью 5 см^3, используемую в качестве емкости для элюента.

Концентрирующий патрон № 1 промывают 2 см^3 метанола и 2 см^3 деионизированной воды, процедуру проводят с использованием вакуума, скорость потока растворителя через патрон не должна превышать 2 см^3/мин, при этом нельзя допускать высыхания поверхности патрона. Патрон готовят непосредственно перед использованием.

7.10. Подготовка концентрирующих патронов № 2

Патрон № 2 устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума*. Сверху в патрон устанавливают стеклянную пипетку вместимостью 5 см^3, используемую в качестве емкости для элюента.

Концентрирующий патрон № 2 промывают 5 см^3 этилацетата и 5 см^3 смеси гексан–этилацетат (объемное соотношение 90 : 10), процедуру проводят с использованием вакуума, скорость потока растворителя через патрон не должна превышать 2 см^3/мин, при этом нельзя допускать высыхания поверхности патрона. Патрон готовят непосредственно перед использованием.

7.11. Проверка поведения изопиразама на концентрирующем патроне № 1

В круглодонную колбу вместимостью 150 см^3 помещают 0,1 см^3 рабочего раствора № 1 изопиразама для внесения с концентрацией 10,0 мкг/см^3 (п. 7.2.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 1,5 см^3 ацетонитрила и 8,5 см^3 деионизованной воды, помещая на ультразвуковую баню на 30 с, перемешивают и наносят на подготовленный концентрирующий патрон № 1 (п. 7.9). Патрон № 1 промывают 2 см^3 смеси вода–ацетонитрил (75 : 25, по объему), элюат отбрасывают.

---

* В отсутствие специального аллонжа, жидкость продавливают через патрон с помощью шприца, скорость продавливания раствора не должна превышать 2—3 капли в секунду.

Патрон № 1 высушивают воздухом (с использованием вакуума) в течение 5 минут.

Изопиразам элюируют с патрона № 1 10 $см^3$ метанола, отбирая фракционно (по 5 $см^3$) элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 $см^3$ ацетона, анализируют содержание изопиразама по п. 9.6.

Фракции, содержащие изопиразам, объединяют и вновь анализируют. Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с патрона и необходимый для очистки объем элюента.

7.12. Проверка поведения изопиразама на концентрирующем патроне № 2

В круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ рабочего раствора № 1 изопиразама для внесения с концентрацией 10,0 мкг/$см^3$ (п. 7.2.2), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 0,25 $см^3$ этилацетата и 4,75 $см^3$ гексана, помещая на ультразвуковую баню на 30 с, перемешивают и наносят на подготовленный концентрирующий патрон № 2 (п. 7.10). Патрон № 2 промывают 5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2), элюат отбрасывают.

Изопиразам элюируют с патрона № 2 10 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (объемное соотношение 1 : 1), отбирая фракционно (по 5 $см^3$) элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 $см^3$ ацетона, анализируют содержание изопиразама по п. 9.6.

Фракции, содержащие изопиразам, объединяют и вновь анализируют. Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с патрона и необходимый для очистки объем элюента.

Примечание. Проверку хроматографического поведения изопиразама следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными: ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 17.4.3.01—83 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб», ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб», ГОСТ Р 50436—92 (ИСО 950-79) «Зерновые. Отбор проб зерна», ГОСТ 16270—70 «Яблоки свежие ранних сортов созревания. Технические условия», ГОСТ 21122—75 «Яблоки свежие поздних сортов созревания. Технические условия», ГОСТ 27572—87 «Яблоки свежие для промышленной переработки»; ГОСТ 26313—84 «Продукты переработки плодов и овощей.

Правила приемки, методы отбора проб», а также «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.1979).

Отобранные пробы воды хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 суток. Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр.

Почву подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в защищенном от света месте при комнатной температуре не более месяца. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Пробы зерна и соломы хранят в бумажной или тканевой упаковке при комнатной температуре. Перед анализом почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, зерно и солому измельчают на лабораторных мельницах.

Пробы яблок хранят в полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 дней, для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С, соки анализируют в день приготовления. Перед анализом образцы плодов яблок измельчают с помощью гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

Пробу отфильтрованной воды объемом 200 см^3 вносят на концентрирующий патрон № 1, подготовленный по п. 7.9, со скоростью пропускания 2—3 капли в секунду, используя разряжение, создаваемое водоструйным насосом. Промывают патрон № 1 2 см^3 смеси ацетонитрил–вода (объемное соотношение 25 : 75), элюат отбрасывают. Высушивают патрон № 1 пропусканием воздуха (с использованием вакуума) в течение 5 мин. Изопиразам элюируют с патрона № 1 10 см^3 смеси метанола. Пробу переносят в круглодонную колбу вместимостью 50 см^3 и упаривают до сухого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С, остаток растворяют в 2 см^3 ацетона и анализируют на содержание изопиразама по п. 9.6.

9.2. Почва, зерно, солома хлебных злаков, яблоки, яблочный сок

9.2.1. Экстракция

9.2.1.1. Почва, зерно, солома хлебных злаков, яблоки.

Образец почвы, измельченного зерна, яблок массой 20 г, соломы массой 5 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, до-

бавляют смесь ацетонитрил–вода (80 : 20, по объему) в количестве 90 см^3 (для соломы – 120 см^3) и помещают на аппарат для встряхивания на 30 минут (почву – на 1 час). Пробе дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 40 см^3 смеси ацетонитрил–вода (80 : 20, по объему), выдерживая каждый раз по 1 мин на ультразвуковой бане и 30 мин на аппарате для встряхивания. Осадок на фильтре промывают 20 см^3 той же смеси растворителей.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерный цилиндр на 250 см^3, доводят объем до 200 см^3 смесью ацетонитрил–вода (80 : 20, по объему), перемешивают. В колбу для упаривания на 150 см^3 помещают ½ часть экстракта, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до водного остатка (объем 5—10 см^3) и подвергают очистке перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.3, затем на патроне № 1 по п. 9.4. При анализе пробы зерна (сухой остаток) дополнительно очищают по п. 9.5.

9.2.1.2. Яблочный сок.

Пробу сока массой 20 г вносят в коническую колбу на 250 см^3, добавляют 70 см^3 смеси ацетонитрил–вода (80 : 20, по объему), интенсивно встряхивают в течение 5 минут, помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин и выдерживают 1 час в холодильнике (4—6 °С).

Полученный экстракт отфильтровывают на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр средней плотности. Осадок на фильтре повторно дважды промывают 20 см^3 смеси ацетонитрил–вода (80 : 20, по объему).

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерный цилиндр на 250 см^3, доводят объем экстракта смесью ацетонитрил–вода (80 : 20, по объему) до 200 см^3, перемешивают, ½ часть экстракта переносят в колбу для упаривания на 150 см^3, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С до водного остатка (объем 5—10 см^3) и подвергают очистке по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Водную фазу, полученную по п. 9.2, помещают в делительную воронку вместимостью 250 см^3, вносят 5 см^3 насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают. Затем в воронку добавляют 30 см^3 дихлорметана и интенсивно встряхивают 5 мин. После полного разделения

фаз нижний дихлорметановый слой переносят в колбу для упаривания вместимостью 150 $см^3$, фильтруя через слой безводного сульфата натрия (толщиной около 1 см), помещенный на бумажном фильтре в химическую воронку.

Экстракцию изопиразама повторяют еще дважды порциями дихлорметана объемом 20 $см^3$, встряхивая в течение 5 мин.

Осушитель на фильтре дополнительно промывают 10 $см^3$ дихлорметана.

Для полного разделения фаз содержимое воронки должно отстояться 10—15 мин. Следы дихлорметана в водной фазе недопустимы, поскольку это снижает полноту извлечения вещества.

Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха и подвергают дополнительной очистке на патроне по п. 9.4.

9.4. Очистка экстракта на концентрирующем патроне № 1

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.3, растворяют с помощью ультразвуковой бани в 1,5 $см^3$ ацетонитрила, затем добавляют 8,5 $см^3$ деионизованной воды, перемешивают и переносят на подготовленный концентрирующий патрон № 1 (п. 7.9). Патрон промывают 2 $см^3$ смеси вода–ацетонитрил (75 : 25, по объему), элюат отбрасывают. Патрон № 1 высушивают воздухом (с использованием вакуума) в течение 5 минут.

Изопиразам элюируют 10 $см^3$ метанола в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 150 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона и анализируют содержание изопиразама по п. 9.6. При анализе пробы зерна (сухой остаток) дополнительно очищают по п. 9.5.

9.5. Очистка экстракта зерна на концентрирующем патроне № 2

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.4, растворяют с помощью ультразвуковой бани в 0,25 $см^3$ этилацетата и 4,75 $см^3$ гексана, помещая на ультразвуковую баню на 30 с, перемешивают и наносят на подготовленный концентрирующий патрон № 2 (п. 7.10).

Патрон № 2 промывают 5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (объемное соотношение 80 : 20), элюат отбрасывают.

Изопиразам элюируют с патрона № 2 10 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (объемное соотношение 1 : 1), упаривают, остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетона, анализируют содержание изопиразама по п. 9.6.

9.6. Условия хроматографирования

9.6.1. Газовый хроматограф с масс-селективным детектором

Хроматографическая, капиллярная, кварцевая колонка, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 5 % – фенил- и 95 % – диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: квадруполя – 150 °С, источника – 230 °С, переходной камеры – 280 °С.

Температура испарителя: 275 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 180 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 10 градусов в минуту до температуры 260 °С, выдержка 18 мин.

Газ 1 (гелий): поток в колонке 1,0 $см^3$/мин.

Давление: 99,8 кПа.

Средняя линейная скорость: 38 см/с.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Режим сканирования – SIM, m/z: 159, 303, 359.

Линейный диапазон детектирования: 0,05—0,5 нг.

9.6.2. Хроматограф газовый с электронозахватным детектором (альтернативный метод)

Хроматографическая, капиллярная, кварцевая колонка, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, содержащая сорбент: 14 % – цианпропилфенил-, 86 %-диметилполисилоксан (толщина пленки сорбента 0,25 мкм).

Температура детектора: 300 °С;
испарителя: 270 °С.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 220 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 7 градусов в минуту до температуры 270 °С, выдержка 12 мин.

Газ 1 (азот): давление 109,8 кПа, скорость 27 см/с, поток 0,8 $см^3$/мин.

Хроматографируемый объем: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,05—0,5 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор изопиразама с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$, разбавляют ацетоном, не более, чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

Содержание изопиразама в пробе (X, мг/дм^3, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V \cdot K}{m}, \text{ где}$$

X – содержание изопиразама в пробе, мг/дм^3, мг/кг;

A – концентрация изопиразама, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

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

m – масса (объем) анализируемого образца, г, см^3;

K – коэффициент, учитывающий объем аликвоты экстракта, взятый для анализа. ($K = 1$ (вода); $K = 2$ (почва, зерно, солома хлебных злаков, яблоки, яблочный сок).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

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

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

($\bar{X} \pm \Delta$), мг/дм^3, мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

$\bar{X}$ – среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/дм^3, мг/кг;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/дм^3, мг/кг:

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

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

Если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«содержание вещества в пробе воды – менее 0,0005 мг/дм^3, почвы, зерна, яблок и яблочного сока – 0,01 мг/кг, соломы хлебных злаков – менее 0,04 мг/кг».*

** 0,0005 мг/дм^3, 0,01 мг/кг, 0,04 мг/кг – предел обнаружения изопиразама в пробах воды, почвы, зерна, яблок, яблочного сока, соломы хлебных злаков соответственно.*

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений 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.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание изопиразама в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,05 до 0,5 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{|X - C| \cdot 100}{C} \leq B, \text{ где}$$

X – концентрация изопиразама в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

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

B – норматив контроля погрешности градуировочной характеристики, % (B = 10 % при P = 0,95).

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, 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 изопиразама, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.3.

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}$ ($\pm\Delta_{л,\bar{X}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/дм^3, мг/кг, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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, концентрация добавки соответственно, мг/дм^3, 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

$$|K_к| \leq K, \qquad (1)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (1) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (1) 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):

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

X_1, X_2 – результаты измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/дм^3, мг/кг;

R – предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Определение остаточных количеств изопиразама в воде, почве, зерне и соломе хлебных злаков, яблоках и яблочном соке методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3277—15

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 18.02.16

Формат 60x84/16 Печ. л. 1,5
Тираж 125 экз. Заказ 13

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