

Утверждаю  
Руководитель Федеральной  
службы по надзору в сфере  
защиты прав потребителей  
и благополучия человека,  
Главный государственный  
санитарный врач  
Российской Федерации  
Г.Г.ОНИЩЕНКО  
24 ноября 2010 года

Дата введения:  
с момента утверждения

**МУК 4.1.2785-10. 4.1. Методы контроля. Химические факторы. Определение остаточных количеств паклобутразола в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания**

1. Разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фитопатологии.
2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 14.10.2010 N 2).
3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 24 ноября 2010 г.
4. Введены в действие с момента утверждения.
5. Введены впервые.

**Общие положения**

Свидетельство об аттестации методики N 0035.16.07.10 от 19.07.2010.

Настоящие Методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств паклобутразола в воде в диапазоне 0,001 - 0,01 мг/куб. дм, в почве и семенах рапса в диапазоне 0,02 - 0,2 мг/кг, в зеленой массе и масле рапса в диапазоне 0,05 - 0,5 мг/кг.

Название вещества по ИСО: паклобутразол.

Название вещества по ИЮПАК: (2RS, 3RS)-1-(4-хлорфенил)-4,4-диметил-2-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)пентан-3-ол.

Структурная формула (не приводится).

C H ClN O.  
15 20 3

Мол. масса: 293,8.

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления 165 - 166 °С. Давление паров при 20 °С: 0,001 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода:  $K_{ow} \log P = 3,2$ . Растворимость (г/куб. дм) при 20 °С: вода

- 0,026, н-гексан - 10, дихлорметан - 100, ацетон - 110, метанол - 150, циклогексан - 180.

Вещество устойчиво к фотолизу и гидролизу в кислой, нейтральной и щелочной средах.

В почвах паклобутразол разрушается очень медленно (в среднем  $DT_{50} = 180$  - 360 дней); только в щелочных почвах (рН 8,8) этот процесс протекает быстрее ( $DT_{50} < 42$  дней).

50

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD<sub>50</sub>) для крыс - 1300 - 2000 мг/кг;  
 острая дермальная токсичность (LD<sub>50</sub>) для крыс и кроликов - > 1000 мг/кг;  
 острая ингаляционная токсичность (LD<sub>50</sub>) для крыс - 3,2 - 4,8 мг/куб. дм  
 воздуха. Оказывает слабое раздражающее действие на слизистую оболочку глаз  
 и кожу. LD<sub>50</sub> для рыб - 27,8 мг/куб. дм (96 ч). Паклобутразол нетоксичен для  
 птиц, пчел, дафний, водорослей.

#### Область применения

Паклобутразол - системный ретардант, обладающий также фунгицидными свойствами. Как ретардант активен на ряде плодовых, древесных, декоративных и зерновых культур. Препарат ингибирует вегетативный рост и увеличивает образование плодовых почек у некоторых плодовых культур, тормозит рост и уменьшает полегание зерновых культур. Помимо этого в небольших дозах он проявляет фунгицидный эффект в отношении возбудителей мучнистой росы и парши. Паклобутразол свободно передвигается по флоэме и ксилеме и поэтому активен как при опрыскивании растений, так и при внесении в почву.

Проходит регистрационные испытания в России в качестве ретарданта и фунгицида в составе смесевых препаратов на посевах ярового рапса при норме расхода до 60 г д.в./га и двукратной обработке за сезон.

### 1. Метрологические характеристики метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и ее составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в табл. 1.

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

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/куб. дм, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), +/- дельта, %, R = 0,95	Стандартное отклонение повторные измерения, сигма, %	Предел повторяемости, r	Предел воспроизводимости, R, %
Вода	от 0,001 до 0,01 вкл.	100	2,9	8	9
Почва	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,8	8	9
	более 0,1 до 0,2 вкл.	25	2,5	7	8
Зеленая масса	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	2,9	8	10
	более 0,1 до 0,5 вкл.	25	2,7	7	9

Семена	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,7	7	9
	более 0,1 до 0,2 вкл.	25	2,2	6	7
Масло	от 0,05 до 0,1 вкл.	50	3,0	8	10
	более 0,1 до 0,5 вкл.	25	2,6	7	8

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	предел обнаружения, мг/куб. дм, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/куб. дм, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, +/- %
Вода	0,001	0,001 - 0,01	91,3	2,6	+/- 2,5
Почва	0,02	0,02 - 0,2	88,7	3,6	+/- 3,3
Зеленая масса	0,05	0,05 - 0,5	86,1	4,1	+/- 3,8
Семена	0,02	0,02 - 0,2	84,8	3,3	+/- 3,1
Масло	0,05	0,05 - 0,5	86,0	3,4	+/- 3,2

## 2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД). Контроль паклубутразола в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из воды смесью гексан - этилацетат (8:2, по объему), из почвы и зеленой массы рапса водным ацетоном, из семян и масла рапса ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем.

Идентификация вещества проводится по времени удерживания, количественное определение - методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен.

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

#### 3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф "Кристалл 2000М" ТИД (СКБ "Хроматэк", Россия)	номер Госреестра N 14516-95
Весы аналитические Sartorius 6110 с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и пределом допустимой погрешности 0,0001 г	ГОСТ 24104-2001
Весы лабораторные Metler P-160 с наибольшим пределом взвешивания до 160 г и пределом допустимой погрешности 0,005 г	ГОСТ 24104-2001
Набор гирь	ГОСТ 7328-2001
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770-74
Пипетки градуированные 1-1-2-1, 1-1-2-2, 1-2-2-5, 1-2-2-10	ГОСТ 29227-91
Пробирки градуированные с шлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770-74
Цилиндры мерные 1-25; 1-50; 1-100; 1-500; 1-1000	ГОСТ 1770-74
Микрошприц МШ-1А	ТУ 64-1-2850

#### 3.2. Реактивы

Аналитический стандарт паклобутрозола (CAS 76738-62-0) с содержанием основного вещества 99,7% (Сингента, Швейцария)	
Ацетон квалификации чда	ГОСТ 2603-79
Ацетонитрил квалификации хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода дистиллированная или деионизированная	ГОСТ 6709-72
н-Гексан квалификации хч	ТУ 6-09-3375-78
Калий углекислый квалификации хч	ГОСТ 4221-76
Калия перманганат квалификации хч	ГОСТ 20490-75
Кальция хлорид квалификации хч	ГОСТ 4161-77
Кислота серная квалификации хч	ГОСТ 4204-77
Натрий углекислый квалификации хч	ГОСТ 83-63
Натрия сульфат безводный квалификации хч	ГОСТ 4166-76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат) квалификации ч	ГОСТ 22300-76

#### 3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон) квалификации осч	ГОСТ 9293-74
Аппарат для встряхивания проб АБУ-1	ТУ 64-1-1081-73
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556-81
Гомогенизатор "Omni-mixer" (Sorvall, США) или гомогенизатор	МРТУ 42-1505

Дистиллятор Cyclon III, мод. 4 BD (Fistreem, Великобритания)	
Установка Elgastat В 114 с патроном Elgacan В 114 для получения деионизированной воды (Elga, Великобритания)	
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 куб. см	ГОСТ 25336-82
Воронки лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336-82
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147-80
Колба Бунзена	ГОСТ 25336-82
Колбы плоскодонные вместимостью 250 куб. см	ГОСТ 9737-93
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 25 и 100 куб. см	ГОСТ 9737-93
Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая ZB-1 (типа SE-30), длина 25 см, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, фирма Phenomenex (США), или аналогичная	
Колонка хроматографическая стеклянная длиной 25 см, внутренним диаметром 8 - 10 мм	
Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236-84
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)	ТУ 25-11-917-76
Силикагель 60 (0,063 - 0,2 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, Германия)	
Стаканы химические вместимостью 50 и 500 куб. см	ГОСТ 25336-82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737-93 (ИСО 641-75)
Фильтры бумажные "красная лента" обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов с техническими и метрологическими характеристиками не хуже приведенных в разделе 3.

#### 4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 "Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны". Организация обучения работников безопасности труда - по ГОСТ 12.0.004.

#### 5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное химическое образование, 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 выполнения измерений

6.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

Условия приготовления растворов и подготовки проб к анализу:

- температура воздуха (20 +/- 5) °С;
- атмосферное давление (84 - 106) кПа;
- относительная влажность воздуха не более 80%.

6.2. Условия хроматографического анализа.

Температура термостата испарителя 270 °С;

Температура детектора 300 °С.

Режим программирования температуры колонки:

начальная температура 170 °С (1 мин.), скорость подъема температуры до 245 °С (0 мин.) 20 °С/мин.;

от 245 до 260 °С (4 мин.), скорость подъема температуры 5 °С/мин.;

от 260 до 280 °С (5 мин.), скорость подъема температуры 20 °С/мин.

Расход газов:

газа-носителя (азот) 2,2 куб. см/мин.;

водорода 12,2 куб. см/мин.;

воздуха 185 куб. см/мин.

Деление потока: 1:1.

Объем вводимой пробы: 1 куб. мм.

Время удерживания паклобутразола: 6 мин. 07 с +/- 2%.

Линейный диапазон детектирования: (0,05 - 1,0) нг.

## 7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем.

### 7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания последней в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.2. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

7.1.3. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 куб. дм ацетона 10 г  $\text{KMnO}_4$  и 2 г  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ).

7.1.4. Очистка силикагеля

Силикагель 60 (0,063 - 0,2 мм) для колоночной хроматографии встряхивают с двойным объемом очищенного ацетона и затем фильтруют на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Силикагель на фильтре промывают 1,5 объемом

ацетона, высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре в течение 5 - 6 часов и затем активируют при температуре 130 °С в течение 5 часов.

## **7.2. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта**

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8 - 10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 3 г силикагеля в 15 куб. см гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 куб. см гексана со скоростью 1 - 2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

## **7.3. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания паклубутразола из колонки с силикагелем**

При отработке методики или поступлении новой партии силикагеля проводят определение объема элюента, необходимого для полного вымывания паклубутразола из колонки с силикагелем.

В круглодонную колбу вместимостью 10 куб. см помещают 0,1 куб. см градуировочного раствора N 1 паклубутразола с массовой концентрацией 10,0 мкг/куб. см в смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему) (п. 7.5.2) и отдувают растворитель током теплого воздуха. Остаток растворяют в 3 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 7.2. Промывают колонку 30 куб. см смеси гексан - этилацетат (1:1, по объему) со скоростью 1 - 2 капли в секунду. Затем через колонку с силикагелем пропускают 50 куб. см смеси гексан - этилацетат (4:6, по объему), отбирая последовательно по 5 куб. см элюата. Каждую фракцию упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, сухие остатки растворяют в 2 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и затем хроматографируют в соответствии с п. 6.2. По результатам обнаружения паклубутразола в каждой фракции определяют объем смеси гексан - этилацетат (4:6, по объему), необходимый для полного вымывания вещества с колонки.

Примечание. При разработке метода анализа паклубутразола в масляных культурах целесообразно проверку хроматографического поведения вещества на колонке с силикагелем проводить с использованием экстрактов контрольных образцов семян и масла.

## **7.4. Подготовка и кондиционирование хроматографической колонки**

Капиллярную кварцевую колонку ZB-1 (типа SE-30) устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 280 °С и скорости газа-носителя 2 куб. см/мин. в течение 8 - 10 часов.

## **7.5. Приготовление градуировочных растворов**

7.5.1. Исходный раствор паклубутразола для градуировки с массовой концентрацией 100 мкг/куб. см

В мерную колбу вместимостью 100 куб. см помещают (0,010 +/- 0,0001) г паклубутразола, растворяют в 40 куб. см ацетона, доводят объем раствора этим же растворителем до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше (-18) °С в течение 2-х месяцев.

7.5.2. Градуировочный раствор паклубутразола с массовой концентрацией 10 мкг/куб. см (раствор N 1)

В мерную колбу вместимостью 100 куб. см помещают 10,0 куб. см исходного раствора паклубутразола с массовой концентрацией 100 мкг/куб. см (п. 7.5.1), разбавляют смесью гексан - этилацетат (8:2, по объему) до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов N 2 - 5.

Градуировочный раствор N 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше (-18) °С в течение месяца.

7.5.3. Градуировочные растворы паклобутразола с массовой концентрацией (0,05 - 0,5) мкг/куб. см (растворы N 2 - 5)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 куб. см помещают 0,5; 1,0; 2,5 и 5,0 куб. см градуировочного раствора N 1 паклобутразола с массовой концентрацией 10,0 мкг/куб. см (п. 7.5.2), доводят до метки смесью гексан - этилацетат (8:2, по объему), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы N 2 - 5 с концентрацией паклобутразола 0,05; 0,1; 0,25 и 0,5 мкг/куб. см соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

## 7.6. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ x с) от концентрации паклобутразола в растворе (мкг/куб. см), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м градуировочным растворам (п. 7.5.3).

В испаритель (инжектор) хроматографа вводят по 1 куб. мм каждого градуировочного раствора (п. 7.5.3) и анализируют при условиях хроматографирования по п. 6.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости  $r$ .

## 7.7. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией исследуемого вещества в начале, середине и в конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца выполняется условие:

$$\frac{S_{\text{изм}} - S_{\text{гр}}}{S_{\text{гр}}} \times 100 \leq K, \quad \text{гр}$$

где:

$S_{\text{изм}}$  и  $S_{\text{гр}}$  - значение площади пика паклобутразола в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, усл. ед.;

$K$  - норматив контроля;

гр

$$K = 0,5 \text{ ДЕЛЬТА,} \\ \text{гр}$$

где +/- дельта - границы относительной погрешности, % (табл. 1).

Если условие стабильности не выполняется только для одного образца, то повторно анализируют этот образец для исключения результата, содержащего грубую ошибку.

Если градуировка нестабильна, выясняют причины нестабильности и повторяют контроль стабильности с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново.

## 8. Отбор, подготовка и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (N 2051-79 от 21.08.1979) и правилами, определенными ГОСТ Р 51592-2000 "Вода. Общие требования к отбору проб", ГОСТ 17.4.3.01-83 "Почвы. Общие требования к отбору проб", ГОСТ 28168-89 "Почвы. Отбор проб", ГОСТ 10852-86 "Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб", ГОСТ 8988-2002 "Масло рапсовое. ТУ".

Пробы воды анализируют в день отбора или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре (-18) °С не более 2-х недель.

Образцы почвы подсушивают на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре (4 - 6) °С не более 4-х недель. Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при температуре (-18) °С.

Пробы зеленой массы рапса хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 1 дня; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при (-18) °С.

Пробы семян подсушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

Пробы масла рапса хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре (0 - 4) °С. В некоторых случаях масло получают из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

Перед проведением анализа зеленую массу измельчают, а семена размалывают на электрической мельнице.

## 9. Выполнение определения

### 9.1. Экстракция и очистка

9.1.1. Вода. 100 куб. см отфильтрованной воды помещают в делительную воронку вместимостью 250 куб. см, добавляют 30 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему) и воронку интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой отделяют и фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу. Водную фазу экстрагируют указанной выше смесью еще дважды порциями по 25 куб. см. Объединенную органическую фракцию упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему), раствор помещают в ультразвуковую ванну на 1 минуту и анализируют на содержание паклобутразола по 10.

9.1.2. Почва. Образец воздушно-сухой почвы массой 25 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 куб. см, добавляют 125 куб. см смеси ацетон - вода (8:2, по объему), перемешивают и колбу помещают на встряхиватель на 1 час. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 куб. см. Почву повторно экстрагируют 75 куб. см указанной выше смеси в течение 30 минут при встряхивании и фильтруют. Измеряют объем объединенного экстракта и 1/5 его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 9.2.

9.1.3. Зеленая масса. Навеску (20 г) измельченного растительного материала помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 куб. см, приливают 100 куб. см смеси ацетон - вода (8:2, по объему), перемешивают и колбу помещают на встряхиватель на 40 минут. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 куб. см. Остаток на фильтре промывают 50 куб. см смеси ацетон - вода (8:2, по объему). Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и 1/4 его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.4. Семена. Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 куб. см, добавляют 50 куб. см ацетонитрила и колбу помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут. Суспензию

фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 куб. см. Растительный материал, оставшийся на фильтре, повторно экстрагируют 30 куб. см ацетонитрила в течение 30 минут при встряхивании и суспензию фильтруют. Измеряют объем объединенного ацетонитрильного экстракта и 1/2 его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в делительную воронку вместимостью 100 куб. см. В воронку вносят 10 куб. см насыщенного ацетонитрилом гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 9.3.

9.1.5. Масло. Образец масла массой 5 г переносят в плоскодонную колбу вместимостью 250 куб. см, добавляют 50 куб. см ацетонитрила и колбу помещают на аппарат для встряхивания на 40 минут. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в делительную воронку через слой ваты, помещенной в конусную воронку. К оставшемуся в колбе маслу приливают 25 куб. см ацетонитрила и операцию экстракции повторяют. После декантации вату промывают 10 куб. см ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. В делительную воронку, содержащую объединенную ацетонитрильную фракцию, вносят 15 куб. см насыщенного ацетонитрилом гексана, интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, а ацетонитрильную фракцию упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее очистку экстракта проводят по п. 9.3.

## **9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей**

Экстракты, полученные по пп. 9.1.2 и 9.1.3 и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка при температуре не выше 40 °С. К водному остатку прибавляют 20 куб. см дистиллированной воды, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 куб. см. В воронку вносят 30 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2), интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему). Объединенную органическую фракцию, содержащую паклубутразол, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30 °С. Сухой остаток экстракта почвы растворяют в 2 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему), раствор помещают в ультразвуковую ванну на 1 минуту и анализируют на содержание паклубутразола по п. 10. Экстракт зеленой массы подвергают дальнейшей очистке по п. 9.3.

## **9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем**

Сухой остаток экстрактов семян и масла, полученный по пп. 9.1.4 и 9.1.5, и сухой остаток экстракта зеленой массы, полученный по п. 9.2, растворяют в 2 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 2 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему), которые также наносят на колонку. Колонку промывают 25 куб. см смеси гексан - этилацетат (1:1, по объему) при анализе экстракта зеленой массы и 15 куб. см этой же смеси при анализе экстрактов семян и масла со скоростью 1 - 2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Паклубутразол элюируют с колонки 50 куб. см смеси гексан - этилацетат (4:6, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 куб. см. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток экстракта семян растворяют в 2 куб. см, а экстрактов зеленой массы и масла в 5 куб. см смеси гексан - этилацетат (8:2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание паклубутразола по п. 10.

## **10. Выполнение измерений**

10.1. В испаритель хроматографа вводят по 1 куб. мм очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 9.1 - 9.3), анализируют при условиях п. 6.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

10.2. Для каждого образца воды, почвы, зеленой массы, семян и масла рапса повторяют операции по пп. 9.1 - 9.3, 10.1.

## 11. Обработка результатов анализа

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программа сбора и обработки хроматографической информации "Хроматэк Аналитик", версия 1.20.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание паклобутразола рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{N_1 \times A \times V}{100 \times N_0 \times m},$$

где:

X - содержание паклобутразола в пробе, мг/куб. дм, мг/кг;

N<sub>1</sub> - площадь пика образца, мВ x с;

1

N<sub>0</sub> - площадь пика стандарта, мВ x с;

0

A - концентрация стандартного раствора паклобутразола, мкг/куб. см;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, куб. см;

m - масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки и последующего хроматографического определения, куб. см, г.

## 12. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

где:

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> - результаты параллельных определений, мг/кг (куб. дм);

1 2

r - значение предела повторяемости (табл. 1), при этом r = 2,8 сигма .

r

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

### 13. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \text{ДЕЛЬТА})$ , мг/кг, (куб. дм) при вероятности  $P = 0,95$ ,

где:

$\bar{X}$  - среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг (куб. дм);

ДЕЛЬТА - граница абсолютной погрешности, мг/кг (куб. дм);

$$\text{ДЕЛЬТА} = \text{дельта} \times \bar{X} / 100,$$

дельта - 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 нижней границы определения"

менее 0,001 мг/куб. дм для воды <\*>;

менее 0,02 мг/кг для почвы и семян <\*\*>;

менее 0,05 мг/кг для зеленой массы и масла <\*\*\*>.

-----  
<\*> 0,001 мг/куб. дм - предел обнаружения для воды.

<\*\*> 0,02 мг/кг - предел обнаружения для почвы и семян.

<\*\*\*> 0,05 мг/кг - предел обнаружения для зеленой массы и масла.

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал паклобутразола, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,5 мкг/куб. см, разбавляют, но не более чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой. При расчете содержания паклобутразола учитывают разбавление.

### 14. 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".

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

14.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки  $S$  должна удовлетворять условию:

$d$

$$C = \frac{\Delta}{d} + \frac{\Delta}{l, X'} ,$$

где +/- ДЕЛЬТА ( +/- ДЕЛЬТА ) - характеристика погрешности л, X (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг (куб. дм) при этом:

$$\Delta = +/- 0,84 \frac{\Delta}{l}$$

где ДЕЛЬТА - граница абсолютной погрешности, мг/кг (куб. дм);

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

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

Результат контроля процедуры К рассчитывают по формуле:

$$K = X' - X - C ,$$

где X', X, C - среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 12) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки соответственно, мг/кг (куб. дм).

Норматив контроля К рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\frac{\Delta^2}{l, X'} + \frac{\Delta^2}{l, X}} .$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

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

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.

14.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

где:

$X_1, X_2$  - результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг  
(куб. дм);

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

Приложение

Таблица

### ПОЛНОТА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАКЛОБУТРАЗОЛА В МОДЕЛЬНЫХ МАТРИЦАХ (n = 5)

Матрица	Внесено паклобутразола, мг/куб. дм, мг/кг	Открыто паклобутразола, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Вода	0,001	89,2	+/- 3,3
	0,002	91,2	+/- 2,4
	0,005	91,8	+/- 2,3
	0,01	93,0	+/- 1,7
Почва	0,02	86,0	+/- 3,9
	0,04	88,0	+/- 3,2
	0,10	88,6	+/- 2,4

	0,20	82,2	+/- 2,1
Зеленая масса	0,05	83,4	+/- 4,4
	0,10	84,6	+/- 3,3
	0,25	86,0	+/- 2,8
	0,50	90,2	+/- 2,5
Семена рапса	0,02	83,0	+/- 3,3
	0,04	83,2	+/- 3,2
	0,10	85,6	+/- 2,7
	0,20	87,2	+/- 2,3
Масло рапса	0,05	85,4	+/- 4,0
	0,10	84,0	+/- 3,2
	0,25	86,0	+/- 3,0
	0,50	88,4	+/- 2,7