Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания тебуконазола в семенах и масле льна методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3059—13

Издание официальное

Москва • 2013

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания тебуконазола в семенах и масле льна методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3059—13

ББК 51.23
И37

И37 **Измерение** остаточного содержания тебуконазола в семенах и масле льна методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—16 с.

ISBN 978—5—7508—1185—4

1. Разработаны сотрудниками ГНУ Всероссийский НИИ фитопатологии (Л. В. Дубовая. А. М. Макеев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 30 мая 2013 года № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 14 июля 2013 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Редактор Н. В. Кожока
Верстка Е. В. Ломанова
Технический редактор А. А. Григорьев

Подписано в печать 30.08.13

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 200 экз. Заказ 35

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 (495)952-50-89

© Роспотребнадзор, 2013
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
14 июля 2013 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания тебуконазола в семенах и масле льна методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3059—13

Свидетельство о метрологической аттестации от 14.12.2012 № 01.00225/205-79-12.

1. Назначение и область применения

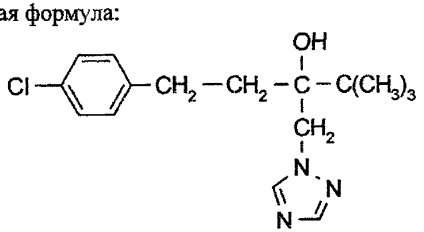
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций тебуконазола в семенах и масле льна в диапазоне 0,3—3,0 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: тебуконазол.

Название действующего вещества по ИЮПАК: (RS)-1-п-хлорфенил-4,4-диметил-3-(1Н-1,2,4-триазол-1-илметил)пентан-3-ол.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{22}ClN_3O$.

Молекулярная масса: 307,8.

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления: 105 °С. Давление паров при 20 °С: $1,7 \times 10^{-3}$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: $K_{OW} \log P = 3,7$. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: дихлорметан – более 200, изопропанол, толуол – 50—100, гексан – менее 0,1, вода – 0,036.

Вещество устойчиво к гидролизу при pH 5—9 и фотолизу.

Тебуконазол медленно разрушается в почве и слабо передвигается по почвенному профилю.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс и мышей – 3 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 5 100 мг/м^3 воздуха. Тебуконазол вызывает слабое раздражение слизистой оболочки глаз у кроликов. LC_{50} для рыб 5,7 мг/дм^3 (96 ч).

Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел, дождевых червей и водорослей.

Область применения препарата. Тебуконазол – системный фунгицид широкого спектра действия с защитным, лечебным и искореняющим эффектом. Активен против возбудителей мучнистой росы, ржавчины, септориоза, фузариоза, ринхоспориоза на зерновых злаках, альтернариоза и склеротиниоза на рапсе. В России применяется для обработки вегетирующих растений зерновых злаков и рапса в дозах до 250 г д.в. на 1 га, а также для протравливания семян в дозах до 30 г д.в. на 1 т. Используется тебуконазол также в качестве составного компонента смесевых препаратов.

2. Метрологические характеристики

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

Таблица

Анализируемый объект	Диапазон измерений массовой доли тебуконазола, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности) ±δ, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости, r, %, $P = 0,95$, $n = 2$
Семена льна	От 0.30 до 1,0 вкл.	24	5	8	14
	Св. 1,0 до 3,0 вкл.	18	4	6	11
Масло льна	От 0,30 до 1.0 вкл.	25	5	8	14
	Св. 1,0 до 3,0 вкл.	13	3	4,5	8

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции тебуконазола из семян и масла льна ацетонитрилом, очистке экстрактов, содержащих тебуконазол, от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с флоризилом, с последующим измерением содержания тебуконазола методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) при программировании температуры с термоионным детектором (ТИД) и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

4. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

4.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с термоионным детектором
Весы аналитические с пределом взвешивания до 110 г и допустимой погрешностью 0,0001 г ГОСТ Р 53228—2008
Весы лабораторные с пределом взвешивания до 160 г и допустимой погрешностью 0,005 г ГОСТ Р 53228—2008
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1 000-2 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 пришлифованной 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 для ввода образцов в газовый хроматограф вместимостью 1—10 мм^3	ТУ 64-1-2850

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

4.2. Реактивы

Тебуконазол, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,8 %	
Ацетон, особой чистоты,	ГОСТ 2603—79.
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—2005
Гелий газообразный, очищенный	ТУ 0271-135-31323949—2005
н-Гексан. хч	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 1138—84

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

4.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая, нестерильная	ГОСТ 5556—81
Генератор водорода	
Компрессор	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронки делительные вместимостью 100 и 250 см^3	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Колба Бунзена вместимостью 250 см^3	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 50, 100 см^3	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные вместимостью 250 см^3	ГОСТ 9737—93

Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с нанесенной пленкой из смеси 5 % дифенилполисилоксана и 95 % диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 20 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236—79
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Флоризил для колоночной хроматографии с размером частиц 0,15—0,25 мм	
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641—75)
Фильтры бумажные средней плотности	ТУ 6-09-1678—86

Примечание. Допускается использование других вспомогательных средств измерений и устройств аналогичного назначения, технические характеристики которых не уступают вышеуказанным, а также материалов, обеспечивающих нормативы точности при проведении измерений.

5. Требования безопасности, охраны окружающей среды

5.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007—76, 12.1.005—88.

5.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ соблюдают требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и должны быть в наличии средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—90. Обучение работающих правилам безопасности труда проводят согласно ГОСТ 12.0.004—90.

5.3. При выполнении измерений с использованием хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.4. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке результатов допускается специалист, прошедший обучение, имеющий опыт работы в лаборатории и владеющий техникой проведения газохроматографического анализа, освоивший данную методику и подтвердивший соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

7. Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

7.1. Условия приготовления растворов и подготовки проб к анализу

– температура воздуха	(20 ± 5) °С;
– атмосферное давление	(84—106) кПа;
– относительная влажность воздуха	не более 80 %.

7.2 Условия хроматографического анализа

Температура термостата испарителя	270 °С.
Температура детектора	280 °С.
Режим программирования температуры колонки:	
– начальная температура	170 °С;
– изотермический режим при 170 °С	2 мин;
– скорость подъёма температуры:	
в диапазоне от 170 до 260 °С	25 °С/мин;
в диапазоне от 260 до 270 °С	5 °С/мин;
– изотермический режим при 270 °С	5 мин;
– скорость подъёма температуры:	
в диапазоне от 270 до 280 °С	10 °С/мин;
– изотермический режим при 280 °С	10 мин.
Расход газов:	
газа-носителя (гелий)	2,0 $см^3$/мин;
водорода	4,3 $см^3$/мин;
воздуха	175 $см^3$/мин.
Деление потока 1 : 1.	
Объем вводимой пробы:	1 $мм^3$.
Линейный диапазон детектирования:	0,1—1,0 нг.

8. Подготовка к выполнению измерений

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

8.1. Очистка органических растворителей

8.1.1. 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.

8.1.2. Очистка этилацетата

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %

Навеску (5 ± 0,1) г натрия углекислого растворяют в конической колбе в 40—60 $см^3$ дистиллированной воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора – 1 неделя.

Этилацетат промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют. Срок хранения – 1 неделя.

8.2. Кондиционирование хроматографической колонки

Капиллярную кварцевую колонку устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 290 °С и скорости газа-носителя 2 $см^3$/мин в течение 8—10 ч.

8.3. Приготовление градуировочных растворов

8.3.1. Исходный градуировочный раствор тебуконазола с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (0,010 ± 0,0001) г тебуконазола, растворяют в 40—50 $см^3$ этилацетата, доводят объем этилацетатом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят при температуре не выше (–18) °С в течение 3 месяцев.

8.3.2. Градуировочный раствор тебуконазола с массовой концентрацией 10 мкг/$см^3$ (раствор № 1)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного градуировочного раствора тебуконазола с массовой концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 8.3.1), разбавляют смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) и доводят объем этим же раствором до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № (2—5).

Для приготовления проб семян и масла с внесением при оценке полноты извлечения тебуконазола из исследуемых образцов используют ацетоновый раствор тебуконазола с концентрацией 10 мкг/см^3.

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор тебуконазола хранят при температуре не выше (–18)^{0}С в течение месяца.

8.3.3. Градуировочные растворы тебуконазола с массовой концентрацией 0,1—1,0 мкг/см^3 (растворы № 2—5)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 см^3 градуировочного раствора № 1 тебуконазола с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 8.3.2), доводят объем раствора до метки смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 2—5 с массовой концентрацией тебуконазола 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см^3 соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.4. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мкВ) от концентрации тебуконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам.

В инжектор хроматографа вводят по 1 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 8.3.3) и анализируют при условиях хроматографирования по п. 7.2. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8.5. 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 (1):

$$\frac{\left|S_{изм} - S_{гр}\right|}{S_{гр}} \cdot 100 \le K_{гр}, \text{ где} \qquad (1)$$

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика тебуконазола в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, мкВ;

$K_{гр}$ – норматив контроля, $K_{гр} = 0{,}5 \cdot \delta$, где

$\pm \delta$ – 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.

8.6. Подготовка колонки с флоризилом 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 5 г флоризила в 15 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.7. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания тебуконазола из колонки с флоризилом

При отработке методики или поступлении новой партии флоризила проводят определение объёма элюента, необходимого для полного вымывания тебуконазола из колонки с флоризилом.

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора тебуконазола с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 в смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), растворитель упаривают досуха при температуре не выше 40 °С. Остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и раствор наносят на колонку с флоризилом, подготовленную по п. 8.6. Промывают колонку 40 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем через колонку с флоризилом пропускают 50 см^3 смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему), отбирая последовательно фракции элюента по 10 см^3. Каждую фракцию упаривают досуха, остатки растворяют в 1 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ульт-

развуковую ванну на 1 мин, а затем хроматографируют в соответствии с п. 7.2.

По результатам обнаружения тебуконазола в каждой из фракций определяют объем элюента, необходимый для полного вымывания тебуконазола из колонки.

9. Отбор проб и хранение

Отбор проб производят 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) и правилами, определенными ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и ГОСТ 5791—81 «Масло льняное техническое. Технические условия». Семена льна хранят при комнатной температуре в полотняных мешочках, перед анализом доводят до стандартной влажности и измельчают. Льняное масло хранят в холодильнике при температуре 0—4 °С в герметично закрытой стеклянной таре не более 6 месяцев.

10. Проведение определения

10.1. Экстракция тебуконазола из семян льна

Навеску измельченного растительного материала массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 50 см^3 ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания на 40 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 30 см^3 ацетонитрила. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора и ½ его часть (эквивалентную 5 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 10 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 через слой ваты, помещенной в конусную воронку. Вату на фильтре промывают 10 см^3 ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. Объединенную ацетонитрильную фракцию упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.3.

10.2. Экстракция тебуконазола из масла льна

Навеску льняного масла массой 5 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 50 см^3 ацетонитрила и поме-

щают на аппарат для встряхивания на 20 мин. Верхний ацетонитрильный слой декантируют в химический стакан вместимостью 250 $см^3$ через слой ваты, помещенной в конусную воронку. К оставшемуся в колбе маслу приливают 30 $см^3$ ацетонитрила и операцию экстракции повторяют. После декантации ацетонитрильного слоя вату промывают 10 $см^3$ ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. Объединенную ацетонитрильную фазу помещают в морозильник холодильника на 3 ч и затем фильтруют через вату в химический стакан. Вату промывают 10 $см^3$ ацетонитрила, которые объединяют с фильтратом. Фильтрат переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, добавляют 15 $см^3$ гексана и воронку интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, упаривают до маслянистого остатка на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 10.3.

10.3. Очистка экстракта на колонке с флоризилом

Маслянистые остатки в круглодонных колбах, полученные по пп. 10.1 и 10.2, растворяют в 5 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Отбирают 2 $см^3$ полученного раствора и наносят на колонку, подготовленную по п. 8.6. Промывают колонку 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Тебуконазол элюируют с колонки 40 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухие остатки экстрактов семян и масла растворяют в 6 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и раствор анализируют на содержание тебуконазола по п. 11.1.

Полнота извлечения тебуконазола при проведении всех операций подготовки пробы не менее 87 %.

11. Выполнение измерений

11.1. В испаритель хроматографа вводят 1 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 10.1—10.3), анализируют при условиях п. 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

11.2. Для каждого образца семян и масла льна повторяют операции по пп. 10.1—10.3, 11.1.

12. Обработка результатов измерений

12.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации.

Альтернативная обработка результатов.

По градуировочной характеристике находят значение массовой концентрации тебуконазола в экстрактах, C, мкг/см^3.

Массовую долю тебуконазола X, мг/кг, в семенах и масле льна рассчитывают по формуле (2):

$$X = \frac{C \cdot V}{0,87 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

C – значение массовой концентрации тебуконазола в экстрактах, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с флоризилом и последующего хроматографического определения, г;

0,87 – коэффициент извлечения тебуконазола, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

12.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости (3):

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли тебуконазола, мг/кг;

r – значение предела повторяемости, % (табл. 1).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями МВИ.

12.3. Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$\bar{X} \pm 0,01 \cdot \delta \cdot \bar{X}, \text{ при } P = 0,95, \text{ где}$$

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

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности измерений, % (табл.).

В случае, если полученный результат измерений ниже нижней границы диапазона измерений, то результат анализа представляют в виде:

«*массовая доля тебуконазола в семенах, масле менее 0,3 мг/кг*».

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал тебуконазола, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют смесью гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) и анализируют в соответствии с данной методикой.

13. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

13.1. Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

13.2. Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

13.3. Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R)

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

X_1, X_2 – результаты измерений массовой доли тебуконазола, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

R – предел воспроизводимости, % (при этом $R = 2{,}77 \cdot \sigma_R$).

Если предел воспроизводимости не превышен, то приемлемы все результаты измерений и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если предел воспроизводимости превышен, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (п. 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (п. 5.3.4).

14. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по п. 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 и показателя правильности по п. 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

gost.e-ecolog.ru