Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1 МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания флуопиколида в семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3060—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 флуопиколида в семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3060—13

ББК 51.23
И37

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

ISBN 978—5—7508—1187—8

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. Е. Акопова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 30.08.13

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 200 экз. Заказ 34

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 флуопиколида в семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3060—13

Свидетельство о метрологической аттестации от 14.12.2012 № 01.00225/205-80-12.

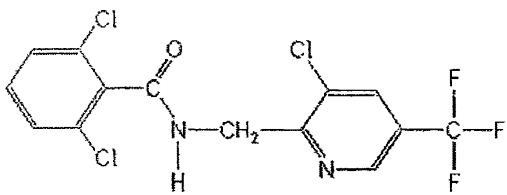
1. Назначение и область применения

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций флуопиколида в семенах и масле рапса в диапазоне 0,01—0,10 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Флуопиколид

2,6-дихлор-N-[3-хлор-5-(трифторметил)-2-пиридилметил]бензамид



Эмпирическая формула: $C_{14}H_8Cl_3F_3N_2O$.
Молекулярная масса: 383,6.

Бежевое твердое вещество со слабым фенольным запахом. Температура плавления: (150) °С. Давление паров при 20 °С: $3,03 \times 10^{-4}$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} $\log P = 2,9$. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: ацетон – 74,7, этилацетат – 37,7, дихлорметан – 126, этанол – 19,2, н-гексан – 0,2; растворимость в воде – 0,0028.

Вещество стабильно при хранении на воздухе, а также в кислой и щелочной (DT_{50} = 365 дней) средах.

В присутствии света в водных фотолитических условиях флуопиколид достаточно устойчив с периодом полураспада 64,2 дня.

Краткая токсикологическая характеристика.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 5 160 мг/м^3 воздуха.

Флуопиколид не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз, не обладает эмбриотоксическим или тератогенным действием. Для рыб LC_{50} – 0,75 мг/дм^3 (96 ч). Фунгицид нетоксичен для птиц, пчел, дождевых червей, дафний и почвенных микроорганизмов.

Область применения препарата.

Флуопиколид – контактно-системный фунгицид, проявляющий активность против грибов классов Оомицеты и Аскомицеты. Тормозит прорастание зооспор и конидий, подавляет спорообразование и развитие мицелия грибов в тканях растений.

Применяется в России в качестве фунгицида системного действия в составе смесевых препаратов для обработки посадок картофеля против фитофтороза при норме расхода 75—100 г д.в./га и четырехкратной обработке за сезон.

Проходит регистрационные испытания в Российской Федерации в качестве фунгицида в составе инсектофунгицидного протравителя семян рапса с нормой расхода 1,8—2,0 кг д.в./т.

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 табл. 1.

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон измерений массовой доли флуопиколида, 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, %, $P = 0,95$, $n = 2$
Масло рапса	От 0,010 до 0,05 вкл.	30	6	9	17
	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	27	5	8	14
Семена рапса	От 0,010 до 0,05 вкл.	35	8	12	22
	Св. 0,05 до 0,10 вкл.	28	6	9	17

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции флуопиколида из семян и масла рапса водным раствором метанола, очистке экстрактов, содержащих флуопиколид, от коэкстрактивных компонентов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем, разделении компонентов очищенных экстрактов методом капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) при программировании температуры с последующим измерением содержания флуопиколида с использованием электронозахватного детектора (ЭЗД) и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

4. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, реактивам и материалам

4.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с электронозахватным 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; 1-1 000	ГОСТ 1770—74
Микрошприц для ввода образцов для газового хроматографа вместимостью 1-10 мм^3	ТУ 64-1-2850

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

4.2. Реактивы

Флуопиколид, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,2 %	
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—2005
Гелий газообразный, очищенный (или азот)	ТУ 0271-135-313239949—2005
н-Гексан	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Натрия сульфат безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Натрия хлорид, хч	ГОСТ 4233—77
Спирт метиловый (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 1138—84

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-2851—78
Ванна ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
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 диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 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
Стекловата	
Силикагель для колоночной хроматографии с размером частиц 0,063—0,200 мм и размером пор 60А	
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, ГОСТ 12.1.005—88.

5.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ соблюдают требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91, 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 2.2.51313—03 и 2.2.5.2308—07.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускается специалист, прошедший обучение, имеющий опыт работы в лаборатории и владеющий техникой проведения хроматографического 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	300 °С.
Режим программирования температуры колонки:	
– начальная температура	190 °С;
– изотермический режим при 190 °С	1 мин;
– скорость подъёма температуры:	
в диапазоне от 190 до 245 °С	15 °С /мин;
– изотермический режим при 245 °С	8 мин.
– скорость подъёма температуры:	
в диапазоне от 245 до 270 °С	10°/мин;
– изотермический режим при 270 °С	5 мин.
Расход газов:	
газа-носителя (гелий, азот)	2,3 $см^3$/мин;
поддув детектора	30 $см^3$/мин.
Деление потока 1 : 5.	
Объем вводимой пробы	1 $мм^3$.
Линейный диапазон детектирования	0,01—0,2 нг.

8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, кондиционирование хроматографической колонки, градуировка хроматографа, подготовка колонки с силикагелем.

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 в конической колбе растворяют в 40—60 см^3 деионизованной воды. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят объем раствора до метки деионизованной 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 280 °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 флуопиколида с массовой концентрацией 100 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,010 ± 0,0001) г флуопиколида, растворяют в (40—50) см^3 ацетона, доводят этим же растворителем объем до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18 °С не более 3 месяцев.

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

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного градуировочного раствора флуопиколида с массовой концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 8.3.1), разбавляют ацетоном и доводят объем до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов

№ 2—5, а также для внесения в образцы семян и масла при оценке полноты извлечения флуопиколида.

Градуировочный раствор № 1 хранят при температуре не выше –18 °С не более месяца.

8.3.3. Градуировочные растворы флуопиколида с массовой концентрацией 0,01—0,1 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 флуопиколида с массовой концентрацией 1 мкг/см^3 (п. 8.3.2), доводят объем раствора до метки ацетоном, тщательно перемешивают, получают градуировочные растворы № 2—5 с массовой концентрацией флуопиколида 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см^3, соответственно. Растворы готовят непосредственно перед использованием.

8.4. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ · с) от массовой концентрации флуопиколида 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*.

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):

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

$S_{изм}$, $S_{гр}$ – значение площади пика флуопиколида в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, мВ · с;

$K_{гр}$ – 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 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 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают 20 см^3 ацетона и 10 см^3 гексана со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.7. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания флуопиколида из колонки с силикагелем

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

Готовят раствор гексан–этилацетат (9 : 1, по объему). Для этого в мерную колбу вместимостью 500 см^3 вносят 50 см^3 этилацетата и доводят объем раствора до метки гексаном. Срок хранения раствора – 1 неделя.

Готовят раствор гексан–этилацетат (8 : 2, по объему). Для этого в мерную колбу вместимостью 500 см^3 вносят 100 см^3 этилацетата и доводят объем раствора до метки гексаном. Срок хранения раствора – 1 неделя.

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,1 см^3 градуировочного раствора флуопиколида с массовой концентрацией 1 мкг/см^3 в ацетоне (п. 8.3.2) и отдувают растворитель током теплого воздуха. Остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 8.6. Пропускают через

колонку 30 см^3 смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 40 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), отбирая последовательно по 5 см^3 элюата. Каждую фракцию упаривают досуха, остатки растворяют в 1 см^3 ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и затем хроматографируют в соответствии с п. 7.2.

По результатам обнаружения флуопиколида в каждой из фракций определяют объем элюента, необходимого для полного вымывания вещества из колонки.

9. Отбор и хранение проб

Отбор проб производят в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (от 21.08.79 № 2051–79) и правилами, определенными ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб» и 8988—77 «Масло рапсовое. ТУ».

Пробы семян высушивают до стандартной влажности (в соответствии с ГОСТ 10852—86) и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу. Пробы масла хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4 °С. В некоторых случаях масло получают из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

10. Проведение определения

10.1. Экстракция флуопиколида из семян и масла рапса

10.1.1. Экстракция флуопиколида из семян рапса

Приготовление водного раствора метанола с объемной долей 80%

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают 100 см^3 деионизованной воды и доводят объем раствора в колбе до метки метанолом, перемешивают.

Срок хранения раствора – 1 неделя.

Образец размолотых семян массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 водного раствора метанола с объемной долей 80 % и помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 25 см^3 водного раствора метанола с объемной долей 80 %. 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 15 см^3 гексана, насыщенного метанолом, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После расслоения фаз гексановый слой отбрасывают, а водно-метанольную фракцию переносят в круглодонную колбу. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 10.2.

10.1.2. Экстракция флуопиколида из масла рапса

К образцу масла массой 5 г, помещенного в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, приливают 15 см^3 гексана и перемешивают. К раствору добавляют 50 см^3 водного раствора метанола с объемной долей 80 % и колбу помещают на встряхиватель на 30 мин. Верхний водно-метанольный слой декантируют в делительную воронку вместимостью 250 см^3. К оставшемуся в колбе маслянистому остатку приливают 30 см^3 водного раствора метанола с объемной долей 80 % и операцию экстракции повторяют в течение 20 мин. К объединенной водно-метанольной фазе, находящейся в делительной воронке, добавляют 15 см^3 гексана, насыщенного метанолом, и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После расслоения фаз гексановый слой отбрасывают, а водно-метанольную фракцию переносят в круглодонную колбу. (В случае плохого расслоения фаз в раствор добавляют 10 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия.) Далее проводят очистку экстракта по п. 10.2.

10.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Отобранные экстракты семян и масла, полученные по пп. 10.1.1, 10.1.2 и помещенные в круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (6—8 см^3) при температуре не выше 30 °С. К водному остатку добавляют 20 см^3 деионизованной воды, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. В воронку вносят 30 см^3 гексана, интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз верхний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водной фазы проводят еще дважды, используя 30 и 20 см^3 гексана. Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С и подвергают дополнительной очистке на колонке с силикагелем по п. 10.3.

10.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 10.2, растворяют в 2 см^3 смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему), помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 8.6. Колбу обмывают 2 см^3 смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 25 см^3 смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Флуопиколид элюируют с колонки 25 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухие остатки экстрактов семян и масла растворяют в 5 см^3 ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и растворы анализируют на содержание флуопиколида по п. 11.1.

Полнота извлечения флуопиколида при проведении всех операций подготовки пробы не менее 86 %.

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 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.

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

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot V}{0,86 \cdot S_0 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

S_1 – площадь пика флуопиколида в образце, мВ · с;

S_0 – площадь пика флуопиколида в градуировочном растворе, мВ · с;

A – массовая концентрация градуировочного раствора флуопиколида, 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 силикагелем и последующего хроматографического определения, г;

0,86 – коэффициент извлечения флуопиколида, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли флуопиколида, 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. 1)

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

«*массовая доля флуопиколида в семенах, масле менее 0,01 мг/кг*».

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал флуопиколида, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют ацетоном, но не более чем в 10 раз, 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):

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

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

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

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 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