Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств имидаклоприда в ягодах красной и черной смородины, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2286—07

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств имидаклоприда в ягодах красной и черной смородины, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2286-07

ББК 51.21
О 60

О 60 **Определение** остаточных количеств имидаклоприда в ягодах красной и черной смородины, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 18 с

1. Разработаны Всероссийским НИИ защиты растений (В.И. Долженко, И.А. Цибульская, О.С. Юзихин).

2. Рекомендованы к утверждению комиссией по санитарно- эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 2 от 21.06.2007).

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

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 **Печ. л. 1,25**

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

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

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

«УТВЕРЖДАЮ»
Главный Государственный санитарный врач Российской Федерации,
Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
_____Г.Г. Онищенко
28.09.2007 г

Дата введения: 10.12 2007

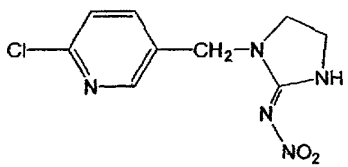
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств имидаклоприда в ягодах красной и черной смородины, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2286-07

1. Вводная часть

Торговое наименование: Танрек, Табу
Фирма производитель: ЗАО Фирма Август.
Действующее вещество: имидаклоприд.
Структурная формула:



1-(6-хлор-3-пиридилметил)–N-нитроимидазолидин-2-илиденамин(IUPAC).

1-[(6-хлор-3-пиридинил)метил]-N-нитро-2-имидазолидинимин(CA).

Брутто формула: $C_9H_{10}ClN_5O_2$.

Мол. масса: 255,7.

Химически чистый имидаклоприд представляет собой бесцветные кристаллы со слабым характерным запахом.

Температура плавления 144°С.

Давление паров 4 x10^{-7} мРа (20°С), 9 x10^{-7} мРа (25°С).

Коэффициент распределения в системе октанол-вода K_{ow} lgP=0.57 (21°С).

Растворимость (г/л) при 20°С: в воде – 0.61; дихлорметане – 55; изопропиловом спирте – 1.2; толуоле –0.68; н-гексане < 0. 1.

Стабилен к гидролизу при pH 5–11.

Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс – 450 мг/кг. Острая дермальная токсичность LD_{50} (24 часа) для крыс – более 5000 мг/кг. Не ирритант для глаз и кожи (кролики). Острая ингаляционная токсичность LC_{50} (4 часа) для крыс – более 5323 мг/м^3 , 69 мг/м^3 воздуха (аэрозоль). LC_{50} (96 часов) для рыб – 211 (237) мг/дм^3.

Имидаклоприд практически не токсичен для птиц, пчёл, дождевых червей, водорослей.

Мутагенной и тератогенной активности в стандартных тестах не обнаружено.

Область применения. Имидаклоприд – системный инсектицид нервно-паралитического действия группы неоникотиноидов. Эффективно уничтожает листовую тлю, белокрылку, минёров, трипсов, колорадского жука, долгоносиков на хлопчатнике, рисе, картофеле, кукурузе, сахарной свекле, овощных культурах, цитрусовых, косточковых и семечковых плодовых в течение вегетационного периода. Может использоваться для обработки, как почвы, так и надземных органов растений.

Гигиенические нормативы для имидаклоприда в России: для ягод чёрной и красной смородины, семян и масла рапса гигиенические нормативы в России не установлены.

2. Методика определения имидаклоприда в ягодах красной и чёрной смородины, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Область применения и принцип метода

Настоящий документ устанавливает методику определения остаточных количеств имидаклоприда в ягодах смородины, семенах и масле рапса в диапазоне концентраций 0.01–0.1 мг/кг.

Методика основана на определении имидаклоприда методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов водно-ацетоновой смесью или органическим растворителем с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися жидкими фазами, на колонке с силикагелем и на патронах Диапак С-8.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P=0.95 не превышает значений, приведенных в таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций

Таблица 1

Метрологические параметры

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, %	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Красная смородина (ягоды)	0 01-0 1	50	5.1	13.3	22 2
Черная смородина (ягоды)	0 01-0 1	50	5.2	14.6	22.6
Семена рапса	0 01-0 1	50	5 5	15.4	23 9
Масло рапса	0 01-0 1	50	5 6	15 7	24 3

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для полного диапазона концентраций (n=20) приведены в таблице 2.

Таблица 2

Объект анализа	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон измеряемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Красная смородина	0 01	0 01–0 1	80 8	6 2	5 4
Черная смородина	0 01	0 01–0 1	81 3	6 2	5 4
Семена рапса	0 01	0 01–0 1	80 5	6 4	5 6
Масло рапса	0 01	0 01–0 1	80 5	6 6	6 0

2.1.3. Избирательность метода

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографического анализа.

2.2. Реактивы и материалы

Азот газообразный высокой чистоты, ТУ 6-16-40-14-88

Ацетон, осч, ТУ 6-09-3513-86.

Ацетонитрил для ВЭЖХ, "В-230НМ" или х.ч., ТУ 6-09-3534-87.

Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.

Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 6709-79.

Дихлорметан, х.ч., ТУ 6-09-3716-80.

Имидаклоприд, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,9% (Sigma–Aldrich).

Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.

Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161–77.

Кислота серная, х.ч., ГОСТ 4204-77.

Натрий двууглекислый, ГОСТ 83–79.

Натрий сернокислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный

Натрия гидроксид, хч., ГОСТ 4328-77

н-Гексан, х ч , ТУ 2631-003-05807999-98, свежеперегнанный.

Подвижная фаза для ВЭЖХ смесь ацетонитрил – вода (20:80, по объему)

Силикагель для колоночной хроматографии 60 (0.040–0.063 mm) (Merck, Германия).

Стекловата.

Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.

Элюент №1 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (50:50, по объему).

Элюент №2 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (10:90, по объему).

Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.

2.3. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы "Waters" с УФ детектором (Waters 2487) с дегазатором и автоматическим пробоотборником или аналогичный.

Колонка Symmetry C-18, (250x4.6) мм, 5 мкм (Waters).

Предколонка Waters Symmetry C-18.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 24104-2001 или аналогичные.

Гомогенизатор, МРТУ 42-1505-63.

Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836.008.

Мельница ножевая РМ-120 и лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.

Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.

Бидистиллятор.

pH-метр универсальный ЭВ-74, ГОСТ 22261-76.

Насос водоструйный, МРТУ 42 861-64.

Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС, ГОСТ 25336-82Е.

Колбы круглодонные на шлифах КШ10 и КШ250 29-32 ТС, ГОСТ 25336-82Е.

Воронки лабораторные В-75-110, ГОСТ 25 336-82.

Воронки делительные ВД-3-500, ГОСТ 8613-75.

Цилиндры мерные вместимостью 50, 100, 500 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1770-74.

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1770-74Е.

Пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$, ГОСТ 29169-91.
Колонки стеклянные (25×1) см.
Патроны Диапак С-8

2.4. Отбор и хранение проб

Отбор проб ягод смородины производится в соответствии с ГОСТ 6829-89. «Смородина черная свежая. Требования при заготовке, поставках и реализации». Пробы ягод смородины хранят до анализа в морозильной камере при температуре не выше -18°С в течение 6 месяцев. Отбор проб семян рапса производится в соответствии с ГОСТ 10852-86. «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб». Семена хранят при комнатной температуре в полотняных мешочках, перед анализом доводят до стандартной влажности и измельчают. Масло рапса хранят в холодильнике при температуре 0-4°С в герметично закрытой стеклянной таре в течение 6 месяцев.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 $см^3$ растворителя упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40°С до объема 1 $см^3$ и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с общепринятыми методиками.

2.5.2 Кондиционирование колонки

Перед началом анализа колонку (Symmetry С-18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1–2 часов.

2.5.3. Приготовление растворов

Для получения 75%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 $дм^3$ смешивают 750 $см^3$ ацетона и 250 $см^3$ дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для приготовления 0,05М раствора K_2CO_3 6,9г карбоната калия помещают в мерную колбу ёмкостью 1000 см^3, растворяют при перемешивании в 600 см^3 дистиллированной воды и доводят объём раствора до метки.

Для приготовления 1М раствора NaOH 40г едкого натра помещают в мерную колбу ёмкостью 1000 см^3, растворяют при перемешивании в 600 см^3 дистиллированной воды и доводят объём раствора до метки.

Для приготовления 0,02М раствора NaOH 20 см^3 1М раствора едкого натра помещают в мерную колбу ёмкостью 1000 см^3 и доводят объём раствора до метки дистиллированной водой.

Гексан насыщают ацетонитрилом, встряхивая 500 см^3 гексана со 100 см^3 ацетонитрила в делительной воронке объёмом 1000 см^3 и отделяя после расслаивания жидкостей верхний гексановый слой.

Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с водой в соотношении 20:80 по объему, используя мерные цилиндры.

Для приготовления элюента №1 в колбе на 1000 см^3 смешивают 500 см^3 н-гексана и 500 см^3 этилацетата. Для приготовления элюента №2 в колбе на 1000 см^3 смешивают 100 см^3 н-гексана и 900 см^3 этилацетата.

Приготовление стандартного и градуировочных растворов

Берут точную навеску имидаклоприда (50 мг), переносят в мерную колбу на 100 см^3, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки. (Стандартный раствор с концентрацией 0.5 мг/ см^3). Градуировочные растворы с концентрациями 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/см^3 готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы - смесь ацетонитрил: вода (20:80, по объему).

Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0–4°С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты извлечения имидаклоприда из ягод чёрной и красной смородины используют ацетонитрильные растворы вещества. Растворы внесения с концентрациями 0.1 и 1.0 мкг/см^3 готовят из стандартного раствора с концентрацией 0.5 мг/см^3 методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом. При изучении полноты извлечения имидаклоприда из семян и масла рапса используют растворы вещества в изопропиловом спирте. Растворы внесения с концен-

трациями 0.1 и 1.0 мкг/см^3 готовят из стандартного раствора с концентрацией 0.5 мг/см^3 методом последовательного разбавления по объему изопропиловым спиртом.

2.5.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация имидаклоприда в растворе) в хроматограф вводят по 20 мм^3 градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации имидаклоприда в градуировочном растворе (мкг/см^3)

2.5.5. Подготовка патрона Диапак С-8 для очистки экстракта

Концентрирующий патрон Дипак С-8 промывают последовательно с помощью шприца 50 см^3 ацетона и затем 50 см^3 воды со скоростью 5 см^3/мин. После чего он готов к работе.

2.5.6. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 30 см^3 смеси гексан – этилацетат (50:50, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 30 см^3 элюента №2 и 30 см^3 элюента №1 со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.7. Проверка хроматографического поведения имидаклоприда на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 см^3 отбирают 0,1 см^3 стандартного раствора имидаклоприда с концентрацией 10 мкг/см^3. Отдувают растворитель током теплого воздуха (температура не выше 40°С), остаток растворяют в 5 см^3 элюента №1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 см^3 элюента №1 и также вносят на колонку. Промы-

вают колонку 120 см^3 элюента №1, которые отбрасывают, затем 100 см^3 элюента №2 со скоростью 1–2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 см^3 каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.3.) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 2.6.7.

Фракции, содержащие имидаклоприд, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.6.7. Рассчитывают содержание имидаклоприда в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: параметры удерживания имидаклоприда и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.5.8. Проверка хроматографического поведения диквата на патроне Диапак С-8

В мерную колбу емкостью 100 см^3 отбирают 1,0 см^3 стандартного раствора имидаклоприда с концентрацией 0,1 мг/см^3, растворитель удаляют в токе азота и доводят объём до метки дистиллированной водой и наносят на приготовленный по п. 2.5.6. патрон. Как только уровень жидкости достигнет верхнего края патрона, его промывают 50 см^3 дистиллированной воды, патрон подсушивают током азота со скоростью 150 см^3/мин в течение 15 мин и затем смывают имидаклоприд 70 см^3 ацетона. Отбирают фракции по 10 см^3 каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.3.) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 2.6.7. Суммируя результаты, рассчитывают содержание имидаклоприда в элюате, определяя полноту вымывания вещества из патрона и необходимый для очистки экстракта объем элюента.

2.5.9 Подготовка приборов и средств измерения

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения проводится в соответствии с требованиями стандартов и технической документации.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Извлечение имидаклоприда из ягод чёрной и красной смородины

Образец предварительно гомогенизированных ягод чёрной смородины помещают в коническую колбу емкостью 250 см^3 с притертой пробкой, добавляют 100 см^3 75%-го водного ацетона и экстрагируют в течение 15 мин на ультразвуковой бане. Суспензию фильтруют на стеклянной воронке через бумажный фильтр "красная лента". Осадок с фильтра количественно переносят назад в колбу и экстракцию повторяют с 50 см^3 75%-ного водного ацетона. Объединенные экстракты испаряют до водного остатка (30–35 см^3) на роторном испарителе при температуре не выше 40°С, доводят объём экстракта до 100 см^3 дистиллированной водой.

Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5 (ягоды красной смородины) или 2.6.4 (ягоды чёрной смородины).

2.6.2. Извлечение имидаклоприда из семян рапса

Навеску размолотых на лабораторной мельнице семян рапса массой 20 г помещают в коническую колбу ёмкостью 250 см^3, приливают 100 см^3 ацетонитрила и экстрагируют в течение 15 мин на ультразвуковой бане. Суспензию фильтруют на стеклянной воронке через бумажный фильтр "красная лента". Осадок с фильтра количественно переносят назад в колбу и экстракцию повторяют с 50 см^3 ацетонитрила. Объединенные экстракты выпаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, выдерживая его в течение 15 мин на ультразвуковой ванне. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5.

2.6.3. Извлечение имидаклоприда из масла рапса

Образец масла массой 20 г растворяют в 100 см^3 гексана, насыщенного ацетонитрилом, помещают раствор в делительную воронку объёмом 250 см^3 и переэкстрагируют имидаклоприд трижды ацетонитрилом, порциями по 50 см^3, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 минут и собирая нижний ацетонитрильный слой. Объединенный экстракт промывают дважды гексаном порциями по 20 см^3, встряхивая смесь каждый раз в течение 2–3 минут. Верхний гексановый слой от-

брасывают. Ацетонитрильный экстракт выпаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, выдерживая его в течение 15 мин на ультразвуковой ванне. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5.

2.6.4. Очистка экстрактов на патронах Диапак С-8

Полученный по п. 2.6.1. раствор количественно переносят в подготовленный по п. 2.5.5. патрон Диапак С-8. Колбу обмывают ещё 5 см^3 дистиллированной воды и также переносят на патрон (Не допускать пересыхания патрона!). Патрон промывают 50 см^3 дистиллированной воды. Патрон подсушивают в токе азота со скоростью 150 см^3/мин в течение 15 мин. Имидаклоприд смывают 50 см^3 ацетона. Элюат собирают, выпаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, выдерживая его в течение 15 мин на ультразвуковой ванне. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5.

2.6.5. Очистка экстрактов

Полученные по п.п. 2.6.1. – 2.6.4. водные экстракты промывают в делительной воронке объёмом 250 см^3 трижды гексаном порциями по 30 см^3 (верхний органический слой отбрасывают), встряхивая делительную воронку каждый раз в течение 1–2 минут. Водную фазу экстрагируют трижды хлористым метиленом порциями по 30 см^3, встряхивая делительную воронку каждый раз в течение 2–3 мин и собирая нижний органический слой.* Объединённый экстракт промывают в делительной воронке дважды 0,02М раствором NaOH порциями по 30 см^3, пропускают через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 см^3 хлористого метилена. После этого экстракт выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.6.**

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.

* В случае образования сравнительно стойких эмульсий для сокращения времени расслоения можно добавить в делительную воронку:

на стадии промывки экстрактов гексаном – небольшое количество (до 5 см^3) этилового спирта, а на стадии переэкстракции – насыщенный раствор хлорида натрия (15–20 см^3).

** В случаях, когда очистка экстрактов контрольных проб дает удовлетворительные результаты дополнительную очистку на колонке с силикагелем можно исключить.

2.6.6. Очистка на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.2.6.5. экстрактов,, количественно переносят двумя порциями смеси гексан – этилацетат (50:50, по объему) по 5 см^3 в кондиционированную хроматографическую колонку (п.2.5.5.). Промывают колонку 120 см^3 элюента №1. Элюат отбрасывают. Имидаклоприд элюируют 70 см^3 элюента №2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 250 см^3. Раствор выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 мм^3 раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.7. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы Waters с УФ детектором (Waters 2487) или другой с аналогичными характеристиками.

Рабочая длина волны 268 нм.

Предколонка Waters Symmetry C-18 для защиты аналитической колонки.

Колонка Symmetry C-18 (250 х 4.6) мм, 5 мкм (Waters, USA).

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода в соотношении 20:80. Скорость потока 1 см^3/мин. Время удерживания имидаклоприда 11.9±0.2 мин.

Объем вводимой пробы 20 мм^3.

Линейный диапазон детектирования 0.1 – 2.0 мкг/см^3.

2.6.8. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки, содержание имидаклоприда в образцах ягод красной и чёр-

ной смородины, семенах и масле рапса (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P},$$

где S_1- площадь пика имидаклоприда в стандартном растворе, мм^2;

S_2- площадь пика имидаклоприда в анализируемой пробе, мм^2;

V - объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, см^3;

P - навеска анализируемого образца, г;

C - концентрация стандартного раствора имидаклоприда, мкг/см^3.

Содержание остаточных количеств имидаклоприда в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2-х параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор имидаклоприда 2 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

3. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq r \qquad (1)$$

где X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости ($r = 2.8\sigma_r$).

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

4. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$(\bar{X} \pm \Delta)$ мг/кг при вероятности P=0.95,

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

"содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения» (например: менее 0.005 мг/кг*, где *-0.005 мг/кг – предел обнаружения)

5. 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».

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д = \Delta_{л,X} + \Delta_{л,X}',$$

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

$$\Delta_л = \pm 0.84\,\Delta.$$

где Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = X' - X - C_д,$$

где X', X, $C_д$ - среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.4) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/кг.

Норматив контроля К рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,X'} + \Delta^2_{л,X}}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($K_к$) с нормативом контроля (К).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$| K_к | \le K, \qquad (2)$$

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 к их устранению.

5.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

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

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

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

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

6. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005-88).

При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкциями по эксплуатации приборов.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91.

7. Требования к квалификации оператора

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п.5.

8. Разработчики

Долженко В.И., Цибульская И.А., Юзихин О.С.

(Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург).

gost.e-ecolog.ru