Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флуопиколида в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3328—15

Издание официальное

Москва • 2016

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 флуопиколида в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3328—15

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств флуопиколида в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.–М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—18 с.

ISBN 978—5—7508—1481—7

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт 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 17 декабря 2015 г. № 2).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 28 декабря 2015 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1481—7

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

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флуопиколида в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3328—15

Свидетельство о метрологической аттестации от 17.07.2015 № РОСС RU.0001.310430/0238.17.07.15.

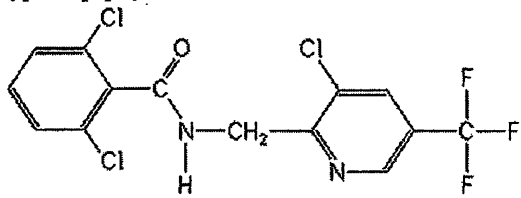
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций флуопиколида в семенах и масле подсолнечника в диапазоне 0,02—0,2 мг/кг, в зеленой массе – в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: флуопиколид.

Название действующего вещества по ИЮПАК: 2,6-дихлор-N-[3-хлор-5-(трифторметил)-2-пиридилметил]бензамид.

Структурная формула:



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 средах (DT_{50} = 365 дней).

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. LC_{50} для рыб – 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.

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.

1. Погрешность измерений

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 табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

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

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности, $P = 0,95$), $\pm\delta$, %	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, % ($P = 0,95$)
Зеленая масса подсолнечника	0,05—0,5	50	2,7	3,8	7,6	10,6
Семена подсолнечника	0,02—0,2	50	2,6	3,6	7,3	10,2
Масло подсолнечника	0,02—0,2	50	2,9	4,1	8,1	11,5

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	средняя полнота извлечения, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, %
Зеленая масса подсолнечника	0,05	0,05—0,5	87,4	3,06	± 1,62
Семена подсолнечника	0,02	0,02—0,2	86,1	2,77	± 1,47
Масло подсолнечника	0,02	0,02—0,2	84,5	3,06	± 1,63

2. Метод измерений

Методика основана на определении флуопиколида методом капиллярной газожидкостной хроматографии с использованием электронозахватного детектора после извлечения вещества из растительных образцов

водным раствором метанола, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

Избирательность метода обеспечивается подбором хроматографической колонки и условий программирования температуры колонки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф с электронозахватным детектором	
Весы аналитические с пределом взвешивания до 110 г и допустимой погрешностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные с пределом взвешивания до 160 г и допустимой погрешностью 0,005 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-250-2, 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 пришлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 1-25; 1-50; 1-100; 1-250; 1-500; 1-1000	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.

3.2. Реактивы

Флуопиколид, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,2 %	
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	ГОСТ Р 52501—05
Гелий газообразный, очищенный (или азот)	ТУ 0271-135-31323949—05
н-Гексан, хч	ТУ 2631-003-05807999—98
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77
Кислота серная концентрированная, 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 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

3.3. 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 вспомогательных средств измерений, устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

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

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа и уложившиеся в нормативы контроля.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов и раствора внесения, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения флуопиколида на колонке.

7.1. Подготовка 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.

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.

7.2. 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 часов.

7.3. Приготовление градуировочных растворов

7.3.1. 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 –12 °С не более 3 месяцев.

7.3.2. 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. 7.3.1), разбавляют ацетоном и доводят объем до метки. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5, а также для внесения в образцы семян, масла и зеленой массы подсолнечника при оценке полноты извлечения флуопиколида. Градуировочный раствор № 1 хранят при температуре не выше –12 °С не более месяца.

7.3.3. 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. 7.3.2), 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.

7.4. Установление градуировочной характеристики

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. 7.3.3) и анализируют при условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости *r*.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

7.5. Приготовление смесей гексан–этилацетат для очистки экстрактов на колонке с силикагелем

7.5.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 9 : 1). В мерную колбу вместимостью 250 см^3 помещают 25 см^3 этилацетата, доводят до метки гексаном, перемешивают. Срок хранения раствора – 1 неделя.

7.5.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2). В мерную колбу вместимостью 250 см^3 помещают 50 см^3 этилацетата, доводят до метки гексаном, перемешивают. Срок хранения раствора – 1 неделя.

7.6. 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.

7.7. Проверка хроматографического поведения флуопиколида на колонке с силикагелем

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

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 7.3.2) 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. 7.6. 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 анализируют на содержание флуопиколида по п. 9.4.

По результатам обнаружения флуопиколида в каждой из фракций определяют объем смеси гексан–этилацеат (8 : 2, по объему), необходимый для полного вымывания вещества из колонки.

Примечание. Проверку хроматографического поведения флуопиколида следует проводить в обязательном порядке, поскольку профиль вымывания вещества может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производят в соответствии с ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 22391—89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 1129—13 «Масло подсолнечное. Технические условия» и «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Образцы зеленой массы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более суток; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре не выше –18 °С до анализа. 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 подсолнечника экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа. Перед проведением анализа зеленую массу измельчают, а семена размалывают на мельнице.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция флуопиколида

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.

9.1.1. Семена подсолнечника. 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 %. Объединенный фильтрат переносят в мерный цилиндр на 100 см^3, доводят общий объем раствора до 100 см^3 приведенным выше растворителем, перемешивают. Аликвоту раствора объемом 50 см^3, 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. 9.2.

9.1.2. Масло подсолнечника. 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 10 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия, 15 см^3 гексана, насыщенного метанолом, и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После расслоения фаз гексановый слой отбрасывают, а водно-метаноль-

ную фракцию переносят в круглодонную колбу. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.3. Зеленая масса подсолнечника. Измельченный образец массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 $см^3$, вносят 100 $см^3$ водного раствора метанола с объемной долей 80 % и помещают на встряхиватель на 40 мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через двойной бумажный фильтр средней плотности в колбу вместимостью 250 $см^3$. Осадок на фильтре промывают 50 $см^3$ водного раствора метанола с объемной долей 80 %. Объединенный фильтрат переносят в мерный цилиндр на 250 $см^3$, доводят общий объем раствора до 200 $см^3$ указанным выше растворителем, перемешивают. Аликвоту раствора объемом 20 $см^3$, эквивалентную 2 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ и добавляют 10 $см^3$ деионизованной воды. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Отобранные экстракты зеленой массы, семян и масла, полученные по п. 9.1.1, 9.1.2 и 9.1.3 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. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2, 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. 7.6. Колбу обмывают 2 $см^3$ смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему), которую 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 зеленой массы, семян и масла растворяют в 10 $см^3$ ацетона, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и растворы анализируют на содержание флуопиколида по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с электронозахватным детектором, снабженный приспособлениями для капиллярной колонки.

Хроматографическая кварцевая капиллярная колонка длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с нанесенной пленкой диметилполисилоксана толщиной 0,5 мкм.

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

Температура термостата колонки – программированная. Начальная температура – 190 °С, выдержка 1 мин; нагрев со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 245 °С, выдержка 0 мин; нагрев со скоростью 3 градуса в минуту до 265 °С, выдержка 6 мин; нагрев со скоростью 15 градусов в минуту до 280 °С, выдержка 5 мин.

Расход газов: газа-носителя (гелий, азот) – 2,3 $см^3$/мин;
поток поддува – 30 $см^3$/мин.

Деление потока: 1 : 4.

Объем вводимой пробы: 1 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования: 0,01—0,1 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 0,1 мкг/$см^3$, разбавляют ацетоном.

10. Обработка результатов анализа

Содержание флуопиколида в пробе (X, мг/кг) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

C – концентрация флуопиколида, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, 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.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2\cdot|X_1 - X_2|\cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r, \text{ где} \qquad (1)$$

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

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

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

12. 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:

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

δ – 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 флуопиколида в пробах зеленой массы подсолнечника – менее 0,05 мг/кг*»*;

«*содержание флуопиколида в пробах семян и масла подсолнечника – менее 0,02 мг/кг*»**.

* 0,05 мг/кг – предел обнаружения;

** 0,02 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее двух образцов концентраций для градуировки, содержание флуопиколида в которых должно охватывать весь диапазон от 0,01 до 0,1 мкг/см^3.

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

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq B, \text{ где} \qquad (2)$$

X – содержание флуопиколида в пробе при контрольном измерении, мкг;

C – известное содержание флуопиколида в градуировочном растворе, взятом для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг;

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

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов флуопиколида, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.3.

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

Допустимо характеристику погрешности результатов анализа при внедрении методики в лаборатории устанавливать с последующим уточнением по мере накопления информации на основе выражения:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Контроль проводят путем сравнения результата контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля K.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки соответственно, мг/кг;

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (3)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (3) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (3) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

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

Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предел 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, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

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

Определение остаточных количеств флуопиколида в семенах, масле и зеленой массе подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3328—15

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редакторы Л. С. Кучурова, Ю. А. Паршина
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 30.08.2016

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 125 экз. Заказ 62

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru