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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах

Сборник методических указаний по методам контроля МУК 4.1.2917—4.1.2919—11; 4.1.2926—11; 4.1.2936—11

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21+51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственном сырье и пищевых продуктах: Сборник методических указаний по методам контроля.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—91 с.

1. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 2.06.2011 № 1).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 12 июля 2011 г.

3. Введены в действие с момента утверждения.

4. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

© Роспотребнадзор, 2011
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

Определение остаточных количеств Тритиконазола в семенах и масле сои методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2917—11 4

Определение остаточных количеств Хлорпирифоса в зерне и соломе пшеницы, яблоках и яблочном соке, семенах и масле рапса, клубнях картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2918—11 21

Определение остаточных количеств Аминопиралида в зеленой массе, зерне и масле кукурузы, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2919—11 41

Определение остаточных количеств Хлорпирифос-метила в зеленой массе и корнеплодах сахарной свеклы, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.2926—11 63

Определение остаточных количеств эмамектина (эмамектина бензоата) в яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.2936—11 79

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
12 июля 2011 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств эмамектина (эмамектина бензоата) в яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.2936—11

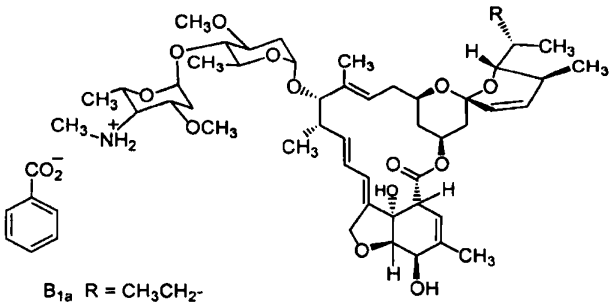
Свидетельство о метрологической аттестации № 0082.20.04.11 от 25.04.2011.

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации эмамектина бензоата (далее эмамектина) в яблоках и яблочном соке в диапазоне 0,005—0,05 мг/кг.

Эмамектин бензоат – смесь эмамектина бензоата B_{1a} и эмамектина бензоата B_{1b}. Содержание компонента B_{1a} не менее 90 %.

Эмамектин бензоат B_{1a} – *(10E,14E,16E,22Z)-(1R,4S,5′S,6S,6′S, 8R,12S,13S,20R,21R,24S)*-6′-[(S)-*втро*-бутил]-21,24-дигидрокси-5′,11,13, 22-тетраметил-2-оксо-(3,7,19-триоксатетрацикло[15.6.1.1^{4,8}.0^{20,24}] пентакоза-10,14,16,22-тетраен)-6-спиро-2′-(5′,6′-дигидро-2′Н-пиран)-12-ил 2,6-дидеокси-3-*О*-метил-4-*О*-(2,4,6-тридеокси-3-*О*-метил-4-метиламино-α-L-ликсо-гексопиранозил)-α-L-*арабино*-гексопиранозид

Эмамектин бензоат B_{1b} – *(10E,14E,16E,22Z)-(1R,4S,5′S, 6S,6′S, 8R,12S,13S,20R,21R,24S)*-21,24-дигидрокси 6′-изопропил-5′,11,13,22-тетраметил-2-оксо-(3,7,19-триоксатетрацикло-[15.6.1.1^{4,8}.0^{20,24}] пентакоза-10,14,16,22-тетраен)-6-спиро-2′-(5′,6′-дигид-ро-2′Н-пиран)-12-ил2,6-дидеокси-3-*О*-метил-4-*О*-(2,4,6-тридеокси-3-*О*-метил-4-метил-амино-α-L-ликсо-гексопиранозил)-α-L-*арабино*-гексопиранозид



B_{1a} R = CH_3CH_2-

B_{1b} R = CH_3-

Компонент:	R:	Эмпирическая формула:	Молекулярная масса:
эмамектин бензоат B_{1a}	CH_2-CH_3	$C_{56}H_{81}NO_{15}$	1008,3
эмамектин бензоат B_{1b}	CH_3	$C_{56}H_{79}NO_{15}$	994,2

Эмамектин бензоат – кристаллический порошок, с органическим запахом, цвет от белого до грязно-белого. Температура плавления 141—146 °С (с термальным разложением при нагревании до 300 °С). Плотность от 1,2 г/см^3 (23 °С). Давление паров: 4×10^{-6} Па (25 °С). Растворимость в воде (при 25 °С): 0,31 г/дм^3 (дистиллированная вода, pH 6,5), 0,32 г/дм^3 (буферный раствор, pH 5), 0,024 г/дм^3 (буферный раствор, pH 7), 0,0001 г/дм^3 (буферный раствор, pH 9). Растворимость в органических растворителях (г/дм^3, при 25 °С): октанол – 48, ацетон – 140, дихлорметан – > 500, этилацетат – 81, метанол – 270, толуол – 26, гексан-0,077, циклогексан – 0,23. Коэффициент распределения н-октанол/вода $\log P_{ow}$ 3,0 ± 0,1 (pH 5), 5,0 ± 0,2 (pH 7), 5,9 ± 0,3 (pH 9). Гидролитически стабилен при pH 5—8 (25 °С). Через 6 недель при pH 9 (25 °С) отмечена деградация, DT_{50} 19,5 недель. Подвержен быстрой фотодеградации, DT_{50} (в исследовании квантового выхода фотолиза) – 0,89 дней.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс (самки) – 53 мг/кг, мышей (самки) – 120—165 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс > 2,12—4,44 мг/дм^3 (4 ч).

Область применения:

Эмамектин – несистемный инсектицид кишечно-контактного действия для защиты томатов, виноградной лозы, капусты и других культур от широкого спектра личинок лепидоптеры.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и её составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3 (мг/кг)	Показатель точности (граница относительной погрешности), % $P = 0,95$		Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
		по методу внесено-найдено	граница расширенной неопределенности*, U			
Яблоки	от 0,005 до 0,05 вкл.	21,1	50	4,1	11	15
Яблочный сок	от 0,005 до 0,05 вкл.	15,8	50	3,9	11	15
* U – граница расширенной неопределенности при коэффициенте охвата 2, в соответствии с документом SANCO/10684/2009						

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

Таблица 2

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Полнота извлечения вещества, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Яблоки	0,005	0,005—0,05	83,11	3,83	± 2,04
Яблочный сок	0,005	0,005—0,05	88,89	3,77	± 2,01

2. Метод измерений

Методика основана на определении эмамектина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с флуоресцентным детектором после экстракции эмамектина из проб яблок и яблочного сока – ацетонитрилом, очистки аликвоты экстракта

на концентрирующих патронах Oazis® HLB, превращения вещества во флуорогенное (N-трифторацетилированное) производное.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с флуоресцентным детектором, фирмы «Agilent» (США)	Номер Госреестра 16193-06
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—2001
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ 24104—2001
Колбы мерные 2-100-2 и 2-1 000-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ 7328—2001
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 0,1; 1,0; 2,0; 5,0 и 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные 2-го класса точности вместимостью 10 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Термометр лабораторный шкальный ТЛ-2, цена деления 1 °С, пределы измерения 0—55 °С	ТУ 25-2021.003—88
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 50, 500, 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Эмамектин бензоат (МК244), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества (98,1 ± 0,3) % (B1a 94,4 %, B1b 3,7 %), CA Reg. № 155569-912-8 (фирма «Syngenta»)	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—2005
Калий углекислый (карбонат, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кислота ортофосфорная, хч, 85 %	ГОСТ 6552—80
1-N-метилимидазол, фирма «Fluka» (CAS № 616-47-7, BRN 105197)	

Трифторуксусный ангидрид, фирма «Fluka» (CAS № 407-25-0, BRN 746197)	
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995—77
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-4173—85

Допускается использование реактивов иных производителей с более высокой квалификацией, не требующих выполнения п. 7.1 (очистка ацетонитрила).

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аллонж прямой с отводом для вакуума (для работы с концентрирующими патронами)	
Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Воронки конусные диаметром 30—35 мм	ГОСТ 25336—82
Гомогенизатор	
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—2003
Колбы грушевидные (круглодонные) на шлифе вместимостью 20—25 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные (конические) с пришлифованной пробкой вместимостью 50 и 250 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Лед	
Мембранные фильтры микропористые, марки ММК, капроновые, диаметром 50 мм, размер пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—2003
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Патроны для твердофазной экстракции Oazis® HLB 3cc (60 mg), WAT094226, Lot № 077B37297C (Waters, США)	
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Eclipse XDB C18, зернение 5 мкм	
Центрифуга роторная, скорость вращения до 3 500 об./мин, с центрифужными стаканами объемом 100 $см^3$	

Шприц для ввода образцов для жидкостного
хроматографа вместимостью 50—100 мм^3

Допускается применение другого оборудования 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 по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—79, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный 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 на должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07. Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе, освоивших данную методику и подтвердивших экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

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 жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка ацетонитрила (при необходимости), приготовление реактива для дериватизации, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, приготовление растворов для градуировки и внесения, установление градуировочной характеристики, подготовка концентрирующих патронов Oazis® HLB.

7.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм^3 ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм^3 ацетонитрила 10 г карбоната калия).

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

7.2.1. Приготовление раствора ортофосфорной кислоты с массовой долей 0,1 % (0,1 %-й раствор). В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 250—300 см^3 бидистиллированной воды, вносят 1 см^3 ортофосфорной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

7.2.2. Приготовление подвижной фазы. В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 950 см^3 ацетонитрила, вносят 50 см^3 0,1 %-го раствора ортофосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2) при скорости подачи растворителя 1,3 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление реактива для дериватизации

Смешивают трифторуксусный ангидрид и свежеперегнанный ацетонитрил в объемном соотношении 1 : 2. Реактив годен в течение рабочего дня.

7.5. Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения

7.5.1. Исходный раствор эмамектина для градуировки (концентрация 200 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,0200 г эмамектина, растворяют в 50—60 см^3 ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре –18 °С в течение 6 месяцев.

Растворы № 1—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

7.5.2. Раствор № 1 эмамектина для градуировки и внесения (концентрация 2 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного раствора эмамектина с концентрацией 200 мкг/см^3 (п. 7.5.1), разбавляют ацетонитрилом до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре –18 °С в течение 6 месяцев.

Этот раствор используют для приготовления проб яблок и яблочного сока с внесением эмамектина при оценке полноты извлечения вещества методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.5.3. Рабочие растворы № 2—5 эмамектина для градуировки (концентрация 0,01—0,1 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5; 1,0; 2,5 и 5,0 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 2 мкг/см^3 (п. 7.5.2), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией эмамектина 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см^3, соответственно.

Рабочие растворы сразу после приготовления помещают в морозильную камеру, где хранят при температуре –18 °С в течение 6 месяцев.

7.5.4. Рабочие растворы № 2а—5а флуорогенного производного эмамектина для градуировки (соответствуют концентрации эмамектина 0,01—0,1 мкг/см^3). В 4 градуированные пробирки вместимостью 10 см^3 вносят по 1 см^3 каждого из 4 рабочих растворов эмамектина № 2—5 (п. 7.5.3), прибавляют по 0,1 см^3 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0—5 °С, помещая пробирки на ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 см^3 реактива для дериватизации (приготовленного по п. 7.4), перемешивают и выдерживают час при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку вносят по 0,6 см^3 бидистиллированной воды и 3 см^3 ацетонитрила, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2а—5а флуорогенного производного с концентрацией эмамектина 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см^3, соответственно.

Рабочие растворы сразу после приготовления помещают в морозильную камеру, где хранят при температуре –18 °С в течение месяца.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (ЕЛ · с) от концентрации эмамектина в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам флуорогенного производного эмамектина № 2а—5а для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 10 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений.

Устанавливают площади пиков (ЕЛ · с) флуорогенного производного основного компонента действующего вещества – эмамектина бензоата B_{1a}.

Градуировочную характеристику проверяют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов. Если значение площадей отличается более чем на 11 % от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

7.7. Подготовка концентрирующих патронов Oazis® HLB

Патрон устанавливают на аллонж с прямым отводом для вакуума и промывают с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом. Используют 1 см^3 метанола, затем 2 см^3 бидистиллированной воды со скоростью прохождения растворителей через патрон 1—2 капли в секунду. Патроны готовят непосредственно перед анализом.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТами: 16270—70 «Яблоки свежие ранних сортов созревания», ТУ»; 21122—75 «Яблоки свежие поздних сортов созревания. ТУ»; 27572-87 «Яблоки свежие для промышленной переработки»; 26313—84 «Продукты переработки плодов и овощей», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Пробы яблок хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 дней, яблочный сок анализируют в день приготовления.

Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Перед анализом яблоки измельчают.

9. Выполнение измерений

9.1. Экстракция

Образец измельченных яблок массой 10 г (m) помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, добавляют порцию ацетонитрила объемом 47 см^3, помещают на 3 мин в ультразвуковую баню, затем 15 мин встряхивают на механическом встряхивателе. Пробе дают отстояться, переносят в центрифужный стакан и центрифугируют 5 мин при 3 500 об./мин. Аликвоту надосадочной жидкости объемом 10 см^3 ($^1/_5$ часть экстракта) с помощью пипетки переносят в плоскодонную колбу вместимостью 50 см^3, добавляют порцию бидистиллированной воды объемом 18 см^3, помещают на 2 мин в ультразвуковую баню, подвергают очистке по п. 9.2, затем дериватизации по п. 9.3.

9.2. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Oazis HLB

Пробу, полученную по п. 9.1 или 9.4, вносят с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом на концентрирующий патрон Oazis HLB 3cc (60 mg), подготовленный по п. 7.7, со скоростью пропускания раствора 2—3 кап./с, не допуская пересыхания патрона. После нанесения пробы патрон промывают 2 $см^3$ смеси вода–ацетонитрил (7 : 3, по объему), пропуская растворитель до нижнего края сорбента, элюаты отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 2 $см^3$ ацетонитрила, собирая элюат непосредственно в круглодоннную колбу для упаривания вместимостью 20—25 $см^3$ (при сборе элюата в пробирку и последующем переносе раствора в колбу для упаривания, пробирку необходимо обмыть дважды порциями ацетонитрила по 2—3 $см^3$). Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха, Для полного удаления следов влаги в колбу вносят 3—5 $см^3$ ацетонитрила и вновь упаривают. Остаток в колбе растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила (V), помещая в ультразвуковую баню на 2 мин, и подвергают дериватизации по п. 9.3.

9.3. Дериватизация

К ацетонитрильному раствору, полученному по п. 9.2, прибавляют 0,1 $см^3$ 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0—5 °С, помещая пробирки с ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 $см^3$ реактива для дериватизации (приготовленного по п. 7.3), перемешивают и выдерживают час при комнатной температуре. По окончании процесса в пробирку вносят 0,6 $см^3$ бидистиллированной воды и 3 $см^3$ ацетонитрила, тщательно перемешивают и анализируют в условиях хроматографирования, указанных в п. 9.5.

9.4. Яблочный сок

Образец сока массой 10 г (m) помещают в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 40 $см^3$ ацетонитрила, помещают на 5 мин в ультразвуковую баню, затем 15 мин встряхивают на механическом встряхивателе. Пробу переносят в центрифужный стакан и центрифугируют 5 мин при 3 500 об./мин. Аликвоту надосадочной жидкости объемом 10 $см^3$ ($^1/_5$ часть экстракта) с помощью пипетки переносят в плоскодонную колбу вместимостью 50 $см^3$, добавляют 15 $см^3$ бидистиллированной воды, помещают на 2 мин в ультразвуковую баню, подвергают очистке по п. 9.2, затем дериватизации по п. 9.3.

9.5. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

Жидкостный хроматограф с флуоресцентным детектором с переменной длиной волны.

Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Eclipse XDB C18, зернение 5 мкм.

Температура колонки: 35 °С.

Длина волны: возбуждение 365 нм.

эмиссия 470 нм.

Объем вводимой пробы: 10 мм^3.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,1 %-я ортофосфорная кислота (95 : 5, по объему).

Скорость потока элюента: 1,3 см^3/мин

Ориентировочное время выхода:

эмамектин бензоат B_{1b}: 9,940—10,310 мин

эмамектин бензоат B_{1a} – 12,358—13,153 мин (основной пик)

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

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площадь пика (ЕЛ · с) флуорогенного производного эмамектина бензоата B_{1a} (основной пик), находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию эмамектина в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор флуорогенного производного эмамектина с концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом (не более чем в 10 раз).

10. Обработка результатов анализа

Содержание эмамектина в пробе рассчитывают по формуле:

$$\tilde{O} = \frac{\grave{A} \cdot V \cdot K}{m}, \text{ где}$$

A – концентрация эмамектина в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику в соответствии с усредненной величиной площади хроматографического пика флуорогенного производного эмамектина бензоата B_{1a}, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемого образца, г.

K = 5, с учетом объема экстракта, взятого для анализа.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

($\overline{X} \pm \Delta$) мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, где

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

U – граница расширенной неопределенности (табл. 1), %.

Если содержание эмамектина менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

«*содержание эмамектина в пробе, яблок и яблочного сока – менее 0,005 мг/кг*»*

* *– 0,005 мг/кг – предел обнаружения в яблоках и яблочном соке.*

13. 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».

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_{\partial} \geq \Delta_{\ddot{e},\bar{O}} + \Delta_{\ddot{e},\bar{O}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{\ddot{e},\bar{O}}$ ($\pm\Delta_{\ddot{e},\bar{O}'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой), мг/кг, при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

U – граница расширенной неопределенности (табл. 1), %.

Контрольный параметр процедуры ($K_к$) рассчитывают по формуле:

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

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, C_{∂} – 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

$$\hat{E} = \sqrt{\Delta^2_{\ddot{e},\bar{O}'} + \Delta^2_{\ddot{e},\bar{O}}}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию (2),

$$|K_к| \leq K, \qquad (2)$$

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 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 предела воспроизводимости (R)

$$\frac{2 \cdot \left|\tilde{O}_1 - \tilde{O}_2\right| \cdot 100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \leq R, \text{ где} \qquad (3)$$

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 определяемых концентраций, табл. 1), %.

14. Разработчики

Ракитский В. Н., Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н. (ФГУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора).

gost.e-ecolog.ru