Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флудиоксонила в семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2332—08

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 флудиоксонила в семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2332-08

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный Государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г.Г. Онищенко
15 февраля 2008 г.
Дата введения: 10 апреля 2008 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

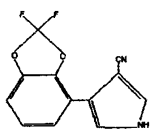
Определение остаточных количеств флудиоксонила семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.2332-08

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации флудиоксонила в семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда в диапазоне 0,02-0,2 мг/кг.

Название вещества по ИСО: Флудиоксонил

Название вещества по ИЮПАК: 4-(2,2-дифтор-1,3-бензодиоксол-4-ил)-пиррол-3-карбонитрил



$C_{12}H_6F_2N_2O_2$
Мол. масса: 248,2

Бесцветное кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления: 199,8°С. Давление паров при 25°С: 3,9 х 10^{-4} мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 4,12. Растворимость (г/$дм^3$) при 25°С: ацетон - 190, этанол - 44, н-октанол – 20, толуол – 2,7, гексан – 0,008, вода – 0,0018.

В биологически активных почвах в аэробных условиях флудиоксонил быстро разлагается или переходит в прочносвязанное состояние: DT_{50} = 10-25 дней.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс и мышей - > 5000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - > 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - > 2600 мг/$м^3$ воздуха. Флудиоксонил не оказывает раздражающего действия на слизистые оболочки глаз и кожу кроликов и не обладает тератогенным, мутагенным и онкогенным эффектами. Фунгицид практически нетоксичен для птиц, рыб, пчел, диких животных, дождевых червей, дафний и водорослей.

Рекомендуемый норматив для флудиоксонила в рапсе (семена и масло) и винограде (ягоды, сок) – 0,05 мг/кг.

Область применения

Флудиоксонил – контактный фунгицид широкого спектра действия с продолжительной активностью. Высокоэффективен против снежной плесени, твердой головни, гельминтоспориозной и фузариозной корневых гнилей на зерновых злаках, а также ризоктониоза, склеротиниоза, серой гнили и альтернариоза на винограде, косточковых плодовых, овощных и декоративных культурах.

Применяется в России в качестве фунгицида для предпосевного протравливания семян зерновых культур, гороха, подсолнечника и сахарной свеклы, а также для обработки клубней картофеля перед закладкой на хранение с нормой расхода от 5 до 125 г д.в./т.

1. Метрологические характеристики 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.

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

Таблица 1

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концен-траций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности) ±δ, %	Стандартное отклонение повторяемости σ_r, %	Предел повторяемости r, %	Предел воспроизводимости R, %
Семена рапса	более 0,1 до 0,2	25	2,1	5,9	9,1
	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,5	7,0	10,8
Масло рапса	более 0,1 до 0,2	25	2,0	5,6	8,7
	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,9	8,1	12,6
Ягоды винограда	более 0,1 до 0,2	25	2,4	6,7	10,4
	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,7	7,6	11,7
Сок винограда	более 0,1 до 0,2	25	1,9	5,3	8,2
	от 0,02 до 0,1 вкл.	50	2,4	6,7	10,4

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20					
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Относительное отклонение DS, %	Доверительный интервал среднего, %
Семена рапса	0,02	0,02 - 0,2	83,1	3,1	1,4	± 2,9
Масло рапса	0,02	0,02 - 0,2	82,8	3,0	1,3	± 2,8
Ягоды винограда	0,02	0,02 - 0,2	85,5	3,3	1,5	± 3,0

Сок винограда	0,02	0,02 - 0,2	85,1	2,7	1,2	± 2,6

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Контроль флудиоксонила в матрицах осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из семян и масла ацетонитрилом, из ягод – ацетоном, из сока – смесью гексана и диэтилового эфира, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак С8.

Идентификация проводится по времени удерживания, количественное определение - методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Избирательность обеспечивается подбором колонки и состава подвижной фазы.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Knauer, Германия)	Номер Госреестра № 16848-03
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,036 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Флудиоксонил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,8% (Сингента, Швейцария)	
Ацетонитрил, хч	ТУ 6-09-3534-87
Вода бидистиллированная	ГОСТ 6702
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Спирт метиловый (метанол), хч	ГОСТ 6995
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300
Эфир диэтиловый	ГОСТ 6265-74

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737
Колба Бунзена	ГОСТ 5614
Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25 и 100 $см^3$	ГОСТ 9737
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см	ГОСТ 9737
Мельница электрическая лабораторная	ТУ 46-22-236
Силикагель 60 (0.063-0,2 мм) для колоночной хроматографии (Мерк, Германия) I степени активности	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	
Стекловата	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или	ТУ 25-11-917

ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)

Установка для перегонки растворителей

Хроматографическая колонка стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм)

Шприц для ввода образцов в жидкостной хроматограф вместимостью 50 - 100 мм^3 (Hamilton, США)

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

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

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя с опытом работы на жидкостном хроматографе.

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)^{0}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

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения ее окрашивания в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.2. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

7.1.3. Очистка диэтилового эфира

Растворитель предварительно встряхивают со свежеприготовленным раствором железного купороса, а затем последовательно промывают 0,5%-ным раствором перманганата калия, 5%-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

7.2. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С8 для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля I степени активности в 20 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают 20 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (1:1, по объему) и 20 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак С8 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 7 $см^3$ ацетонитрила и 7 $см^3$ смеси ацетонитрил-вода (3:7, по объему) со скоростью 5 $см^3$/мин.

7.3. Проверка хроматографического поведения флудиоксонила на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 0,1 $см^3$ градуировочного раствора № 1 флудиоксонила с концентрацией 10 мкг/$см^3$ в ацетонитриле (п. 7.6.2) и отдувают растворитель током азота. Остаток растворяют в 0,6 $см^3$ этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,4 $см^3$ гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую баню на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 100 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек. Фракционно (по 10 $см^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 $см^3$ ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., вносят 1 $см^3$ подвижной фазы, подготовленной по п. 7.4., перемешивают и анализируют на содержание флудиоксонила по п. 9.5.

Фракции, содержащие флудиоксонил, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 20 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 7.4) и вновь анализируют по п. 9.5. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Профиль вымывания флудиоксонила с колонки может меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

7.4. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$помещают 500 $см^3$ ацетонитрила, 500 $см^3$ бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.4.) при скорости подачи растворителя 1 $см^3$/мин не менее 2-х часов до установления стабильной базовой линии.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходный раствор флудиоксонила для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,010 г флудиоксонила, растворяют в 40-50 см^3 ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение 3-х месяцев.

7.6.2. Раствор флудиоксонила №1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3).

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора флудиоксонила с концентрацией 100 мкг/см^3 (п.7.6.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5.

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

Градуировочный раствор № 1 и ацетоновый раствор флудиоксонила хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}с в течение месяца.

7.6.3. Рабочие растворы №№ 2-5 флудиоксонила для градуировки (концентрация 0,05-0,5 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 0.5, 1.0, 2.5 и 5.0 см^3 градуировочного раствора № 1 флудиоксонила с концентрацией 10 мкг/см^3 (п.7.6.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.4., тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией флудиоксонила 0.05, 0.1, 0.25 и 0.5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты пика (мм) от концентрации флудиоксонила в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора (п.7.6.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79 г.) и правилами, определенными ГОСТом 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТом 8988-77 «Масло рапсовое. ТУ», ГОСТом 25896-83 «Виноград свежий столовый».

Пробы семян рапса высушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов в течение 1 года.

Пробы масла хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4^0С не более 30 дней. В некоторых случаях масло получают из семян рапса экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

Пробы ягод анализируют в день отбора или замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре не выше -18^0С.

Сок получают из ягод непосредственно перед проведением анализа. Перед анализом семена и ягоды измельчают с помощью кофемолки и гомогенизатора.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция флудиоксонила

9.1.1. Семена. Образец размолотых семян рапса массой 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 ацетонитрила и помещают в ультразвуковую ванну на 5 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Осадок на фильтре промывают 25 см^3 ацетонитрила. Экстракт и промывную жидкость, объединенные в мерном цилиндре, перемешивают, измеряют объем раствора и ½ его часть (эквивалентную 5 г образца) переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3. К пробе приливают 20 см^3 гексана и смесь интенсивно встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и затем упаривают досуха на ротационном вакуумном

испарителе при температуре 40^{0}С. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.1.2. Масло. Образец масла массой 5 г вносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3, добавляют 50 см^3 метанола и воронку интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. Эмульсию переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют 10 минут при 4000 об/мин. Метанольный слой декантируют в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции масляной фазы повторяют, используя 30 см^3 метанола. Объединенный метанольный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 30^{0}С. Дальнейшую очистку проводят по п. 9.2.

9.1.3. Ягоды. Навеску измельченного растительного материала массой 25 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 см^3, приливают 100 см^3 ацетона и гомогенизируют 3 минуты при 10000 об/мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 см^3. Остаток на фильтре промывают 50 см^3 ацетона. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают 1/5 объема раствора (эквивалентную 5 г образца), переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (1-2 см^3) при температуре 40^{0}С. Дальнейшую очистку проводят по п. 9.2.

9.1.4. Сок. Навеску (20 г) свежевыжатого сока помещают в химический стакан, приливают 60 см^3 деионизованной воды, перемешивают, измеряют объем раствора. Отбирают 1/4 объема раствора (эквивалентную 5 г образца), переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (2-3 см^3) при температуре 40^{0}С. Далее проводят очистку экстракта по п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Остатки экстрактов, полученных по пп. 9.1.1., 9.1.2., 9.1.3. и 9.1.4., растворяют в 30 см^3 смеси ацетонитрил-вода (3:7, по объему) и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3. Прибавляют 30 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (4:1, по объему) и воронку интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После разделения фаз верхний органический слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажный фильтр в конусной воронке, в круг-

лодонную колбу вместимостью 100 см^3. Операцию экстракции водно-ацетонитрильной фазы повторяют еще дважды, используя по 20 см^3 смеси гексан-диэтиловый эфир (4:1, по объему). Объединенную органическую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30^{0}С.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п.9.2., растворяют в 0,6 см^3 этилацетата, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,4 см^3 гексана, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают 3 см^3 смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему), которые также наносят на колонку. Промывают колонку 100 см^3 смеси гексан-этилацетат (8:2, по объему) со скоростью 1-2 капли в сек., отбрасывают первые 45 см^3 элюата и собирают последующие 60 см^3 в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40°С и остаток подвергают дополнительной очистке на концентрирующем патроне Диапак С8 по п. 9.4.

9.4. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак С8

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.3., растворяют в 0,9 см^3 ацетонитрила, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., добавляют 2,1 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают, вновь помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон Диапак С8, подготовленный по п. 7.2., со скоростью 1-2 капли в сек. После нанесения пробы патрон промывают 4 см^3 смеси ацетонитрил-вода (3:7, по объему), элюат отбрасывают. Флудиоксонил элюируют с патрона 4 см^3 смеси ацетонитрил-вода (6:4, по объему) в круглодонную колбу вместимостью 50 см^3. Раствор упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^{0}С. Остаток в колбе растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ, подготовленной по п. 7.4., помещают в ультразвуковую ванну на 1 мин. и анализируют на содержание флудиоксонила по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором (фирмы Knauer, Германия)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасфер 110-С18 (5 мкм)

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода (50:50, по объему)

Скорость потока элюента: 0,8 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 268 нм

Чувствительность: 0,01 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Ориентировочное время выхода флудиоксонила: 9,6 - 10,2 мин.

Линейный диапазон детектирования: 1 - 20 нг

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой, приготовленной по п. 7.4.

Альтернативная подвижная фаза: Диасорб 130-С16

Ориентировочное время выхода флудиоксонила: 8,8 - 9,3 мин.

10. Обработка результатов анализа

Содержание флудиоксонила рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_o \times m}, \text{ где}$$

X - содержание флудиоксонила в пробе, мг/кг;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_o – высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора флудиоксонила, мкг/$см^3$;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, $см^3$;

m - масса анализируемой части образца (г) / для семян, масла, ягод и сока - 5 г/.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r- значение предела повторяемости (таблица 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:

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

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

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

«содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения»

< 0,02 мг/кг для семян и масла рапса, ягод и сока винограда.*

** -0,02 мг/кг – предел обнаружения для рапса и винограда.*

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 с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

где $\pm \Delta_{л,\overline{X}} (\pm \Delta_{л,\overline{X'}})$ – 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, таблица 1), %.

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д,$$

где $\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$- 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 К рассчитывают по формуле

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

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 двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

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

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

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

ББК 51.21
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств флудиоксонила в семенах и масле рапса, ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 18 с.

1. Разработаны: Всероссийским НИИ защиты растений (В.И. Довженко, И.А. Цибульская, И.К. Журкович, Н.В. Луговкина, Н.Г. Ковров).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по защите прав потребителей и благополучия человека (*протокол от* 6 декабря 2007 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 15 февраля 2008 г.

4. Введены в действие с 10 апреля 2008 г.

5. Введены впервые в качестве дополнения.

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

gost.e-ecolog.ru