Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания имидаклоприда в репке и зеленой массе лука методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3272—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

Измерение остаточного содержания имидаклоприда в репке и зеленой массе лука методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3272—15

ББК 51.23
И37

И37 **Измерение** остаточного содержания имидаклоприда в репке и зеленой массе лука методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—16 с.

ISBN 978—5—7508—1425—1

1. Разработаны сотрудниками «ГНУ Всероссийского НИИ фитопатологии» (О. Д. Микитюк, Т. А. Назарова, Г. Д. Соколова, 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 22 мая 2015 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 18 июня 2015 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 22.01.16

Формат 60x84/16 Печ. л. 1,0
Тираж 125 экз. Заказ 1

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

© 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
18 июня 2015 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточного содержания имидаклоприда в репке и зеленой массе лука методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3272—15

Свидетельство о метрологической аттестации от 27.10.2014 № 01.00225/205-35-14.

1. Назначение и область применения

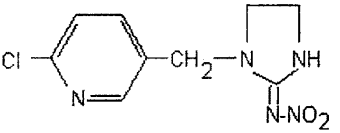
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовых концентраций имидаклоприда в репке и зеленой массе лука в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Имидаклоприд.

Название вещества по ИЮПАК: 1-(6-хлор-3-пиридилметил)-N-нитроимидазолидин-2-илиденамин.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_9H_{10}ClN_5O_2$.

Молекулярная масса: 255,7.

Бесцветное кристаллическое вещество со слабым характерным запахом. Температура плавления: 144 °С. Давление паров при 20 °С: 4×10^{-7} мПа. Коэффициент распределения в системе н-октанол/вода: K_{ow} log P = 0,57. Растворимость (г/дм^3) при 20 °С: гексан – менее 0,1; дихлорметан – 55; изопропанол – 1,2; толуол – 0,68; вода – 0,61.

Вещество устойчиво к гидролизу при pH 5—11 ($T_{1/2}$ более 1 года).

Имидаклоприд относительно слабо передвигается по почвенному профилю и очень быстро разрушается в почве под действием света и микрофлоры.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 450 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 69 мг/м^3 воздуха (аэрозоль). LC_{50} для рыб – 211 мг/л (96 ч).

Имидаклоприд практически нетоксичен для птиц, дождевых червей, водорослей, но опасен для пчел при прямом контакте.

Область применения

Имидаклоприд – инсектицид нервно-паралитического действия с системной активностью, эффективно уничтожает листовую тлю, белокрылку, минеров, трипсов, колорадского жука, долгоносиков на хлопчатнике, рисе, картофеле, кукурузе, сахарной свекле, овощных культурах, цитрусовых, косточковых и семечковых плодовых в течение вегетационного периода. В России применяется для обработки вегетирующих растений картофеля, огурцов и томатов защищенного грунта в дозах до 250 г д.в. на 1 га, а также для протравливания семян и посадочного материала ряда культур.

2. Метрологические характеристики

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.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон измерений содержания имидаклоприда, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности), $\pm\delta$, % при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Предел повторяемости, r, %, $P = 0,95$, $n = 2$	Критическая разность для результатов анализа, полученных в двух лабораториях, $CD_{0,95}$, % ($n_1 = n_2 = 2$)
Репка лука	От 0,05 до 0,10 вкл.	40	10	15	28	37
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	30	7	11	19	27
Зеленая масса лука	От 0,05 до 0,10 вкл.	30	8	12	22	29
	Св. 0,10 до 0,5 вкл.	20	5	8	14	20

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

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 лука	0,05	0,05—0,50	83,4	3,02	± 1,60
Репка лука	0,05	0,05—0,50	83,9	2,73	± 1,44

3. Метод измерений

Метод основан на экстракции имидаклоприда из репки и зеленой массы лука водным раствором ацетона, очистке экстрактов от коэкстрактивных компонентов распределением веществ в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем, разделении компонентов очищенных экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с последующим измерением содержания

имидаклоприда с использованием ультрафиолетового детектора и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

4. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

4.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны, снабженный дегазатором и термостатом колонки	
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 2-100-2, 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, 1-500, 1-1000	ГОСТ 1770—74
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 20—100 мм^3	

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

4.2. Реактивы

Имидаклоприд, аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,6 %	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-3534—87
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)	
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375—78
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Калия перманганат, хч	ГОСТ 20490—75
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77
Кислота ортофосфорная, хч, 85 %	ГОСТ 6552—80
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий серно-кислый безводный, хч	ГОСТ 4166—76

Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—79
Фосфор (V) оксид (пентоксид фосфора), хч	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

4.3. Вспомогательные устройства, материалы

Ванна ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Гомогенизатор с металлическим стаканом вместимостью не менее 500 $см^3$ и скоростью вращения ножа не менее 10 000 об./мин	
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 и 150 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Силикагель для колоночной хроматографии с размером частиц 0,063—0,200 мм и размером пор 60А	
Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Установка для перегонки растворителей с дефлегматором	ГОСТ 9737—93 (ИСО 641—75)
Фильтры бумажные средней плотности	ТУ 6-09-1678—86
Фильтры мембранные, диаметром 47 мм с размером пор 0,45 мкм	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми многофункциональными полярными группами С18, зернением 5 мкм	

Примечание. Допускается использование вспомогательных средств измерений, устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

5. Требования безопасности, охраны окружающей среды

5.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007—76, 12.1.005—88.

5.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ соблюдают требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и должны быть в наличии средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—90. Обучение работников правилам безопасности труда проводят согласно ГОСТ 12.0.004—90.

5.3. При выполнении измерений с использованием хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ Р 12.1.019—09 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.4. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07.

6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускается специалист, прошедший обучение, имеющий опыт работы в лаборатории и владеющий техникой проведения хроматографического анализа, освоивший данную методику и подтвердивший соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

7. Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

7.1. Условия приготовления растворов и подготовки проб к анализу

– температура воздуха	(20 ± 5) °С;
– атмосферное давление	(84—106) кПа;
– относительная влажность воздуха	не более 80 %.

7.2. Условия хроматографического анализа

Температура колонки: 27 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,005 М раствор ортофосфорной кислоты (с объемным соотношением компонентов 25 : 75).

Скорость потока элюента: 0,6 $см^3$/мин.

Рабочая длина волны: 268 нм.

Объем вводимой пробы: 5 мм^3.
Линейный диапазон детектирования: 0,1—1,0 нг.

8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, раствора внесения, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, градуировка хроматографа, приготовление смеси растворителей для очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения имидаклоприда на колонке.

8.1. Подготовка органических растворителей и приготовление растворов

8.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм^3 ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 часа, после чего перегоняют. Перед использованием ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным углекислым калием (на 1 дм^3 ацетонитрила 10 г углекислого калия). Срок хранения – 1 неделя.

8.1.2. 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 прокаленным углекислым калием. Срок хранения – 1 неделя.

8.1.3. Очистка хлористого метилена

Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %

Навеску (5,0 ± 0,1) г натрия углекислого растворяют в конической колбе в (40—60) см^3 деионизованной воды. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят объем раствора до метки деионизованной водой. Срок хранения раствора – 1 неделя.

Растворитель промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлорида кальция, сушат над безводным углекислым калием и перегоняют. Срок хранения – 1 неделя.

8.1.4. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и калием углекислым (на 1 дм^3 ацетона 10 г перманганата калия и 2 г калия углекислого). Срок хранения – 1 неделя.

8.2. Приготовление раствора углекислого калия с молярной концентрацией 0,05 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 6,9 г калия углекислого, приливают 100 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают до растворения осадка, доводят объем раствора бидистиллированной водой до метки, перемешивают. Срок хранения – 1 неделя.

8.3. Приготовление растворов ортофосфорной кислоты

Для приготовления раствора ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 1 моль/дм^3 (1 М раствор) в мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 6,9 см^3 ортофосфорной кислоты, доводят объем раствора бидистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают.

Для приготовления раствора ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 0,005 моль/дм^3 (0,005 М раствор) в мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 5 см^3 1 М раствора ортофосфорной кислоты, доводят объем раствора бидистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают.

8.4. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 см^3 помещают 250 см^3 ацетонитрила, вносят 750 см^3 0,005 М водного раствора ортофосфорной кислоты (п. 8.3), перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр, дегазируют.

8.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой для ВЭЖХ, приготовленной по п. 8.4, при скорости подачи растворителя 0,5 см^3/мин не менее 2 часов до установления стабильной базовой линии (дрейф базовой линии в течение 1 часа не более 5 %, а уровень шумов не более 2 % диапазона выходного сигнала на шкале измерений).

8.6. Приготовление градуировочных растворов

8.6.1. Исходный градуировочный раствор имидаклоприда с массовой концентрацией 100 мкг/см^3. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,0100 ± 0,0001) г имидаклоприда, растворяют в 40—50 см^3 ацетонитрила, доводят объем раствора ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше минус18 °С в течение трех месяцев.

8.6.2. Градуировочный раствор имидаклоприда с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (раствор № 1). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного раствора имидаклоприда с массовой

концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 8.6.1), доводят объем раствора ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают. Этот раствор используют для приготовления градуировочных растворов № 2—5, а также для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено» и контроле точности методом добавок.

Градуировочный раствор № 1 хранят при температуре не выше минус 18 °С в течение месяца.

8.6.3. Градуировочные растворы имидаклоприда с массовой концентрацией 0,02—0,2 мкг/см^3 (растворы № 2—5). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 0,2; 0,4; 1,0 и 2,0 см^3 градуировочного раствора имидаклоприда с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 8.6.2), доводят объем раствора до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 8.4, тщательно перемешивают, получают растворы № 2—5 с массовой концентрацией имидаклоприда 0,02; 0,04; 0,1 и 0,2 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранят в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение недели.

8.7. Градуировка хроматографа

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мкВ · с) от массовой концентрации имидаклоприда в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам (п. 8.6.3).

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм^3 каждого градуировочного раствора (п. 8.6.3) и анализируют при условиях п. 7.2. Осуществляют не менее 3 параллельных определений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости r.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

8.8. Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией исследуемого вещества в начале, середине и конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца выполняется условие:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq B, \text{ где} \qquad (1)$$

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

С – известное содержание имидаклоприда в градуировочном растворе, взятом для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг;

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

Если величина расхождения (*А*) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют причины нестабильности и повторяют контроль стабильности с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново согласно п. 8.5.

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

8.9. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 3 г силикагеля в 15 $см^3$ смеси гексан–ацетон в объемном соотношении 7 : 3. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного серно-кислого натрия высотой 1 см. Колонку промывают 10 $см^3$ вышеприведенной смеси со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

8.10. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания имидаклоприда из колонки с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 $см^3$ отбирают 0,1 $см^3$ стандартного раствора имидаклоприда с концентрацией 10 мкг/$см^3$ (п. 8.6.2), упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан–ацетон в объемном соотношении 7 : 3, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин, и раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 8.9. Колбу обмывают 3 $см^3$ этой же смеси растворителей, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 40 $см^3$ смеси гексан–ацетон в объемном соотношении 7 : 3, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 60 $см^3$ смеси гексан–ацетон (7 : 3, по объему), отбирая последовательно по 10 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают досуха, остатки растворяют в 2 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 8.4) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 7.2.

Фракции, содержащие имидаклоприд, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 10 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 7.2. Определяют полноту смывания вещества с ко-

лонки и объем элюента, необходимый для полного вымывания имидаклоприда из колонки.

Примечание. Проверку хроматографического поведения имидаклоприда на колонке следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

9. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТ 1723—86 «Лук репчатый свежий заготовляемый и поставляемый. Технические условия», ГОСТ Р 51783—01 «Лук репчатый свежий, реализуемый в розничной торговой сети. Технические условия», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Пробы зеленой массы и репки хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 дней; для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре не выше минус 18 °С до анализа. Перед анализом образцы измельчают.

10. Проведение определения

10.1. Экстракция имидаклоприда

Навеску измельченного растительного материала массой 25 г помещают в стакан гомогенизатора вместимостью 500 $см^3$, добавляют 125 $см^3$ смеси ацетон–вода с объемным соотношением компонентов 3 : 1 и гомогенизируют 3 мин при 10 000 об./мин. Гомогенат фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу Бунзена. Осадок на фильтре промывают 50 $см^3$ приведенной выше смеси. Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерный цилиндр, измеряют объем раствора и $^1/_5$ его часть, эквивалентную 5 г образца, переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 10.2.

10.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Аликвоту экстракта пробы (п. 10.1) упаривают до водного остатка (около 5—7 $см^3$) на роторном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. Водный остаток в колбе переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, добавляют 30 $см^3$ бидистиллированной воды и 30 $см^3$ хлористого метилена, предварительно обмыв ими колбу, в которой находилась проба, интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения фаз нижний органический слой собирают в дели-

тельную воронку вместимостью 250 $см^3$, а водную фазу экстрагируют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ хлористого метилена. К объединенной дихлорметановой фракции в делительной воронке вместимостью 250 $см^3$ приливают 20 $см^3$ водного раствора углекислого калия с молярной концентрацией 0,05 моль/$дм^3$ (п. 8.2), содержимое интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз нижний органический слой, содержащий имидаклоприд, фильтруют через слой безводного серно-кислого натрия, помещенный на бумажном фильтре в химическую воронку, в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 10.3.

10.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный по п. 10.2, количественно переносят тремя порциями по 1 $см^3$ смеси гексан–ацетон в объемном соотношении 7 : 3 в подготовленную хроматографическую колонку (п. 8.9). Колонку промывают 35 $см^3$ смеси гексан–ацетон (7 : 3, по объему), которые отбрасывают. Имидаклоприд элюируют с колонки 55 $см^3$ смеси гексан–ацетон с объемным соотношением компонентов 7 : 3 со скоростью 1—2 капли в секунду в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 12,5 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 8.4) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 7.2.

Полнота извлечения имидаклоприда при проведении всех операций подготовки пробы не менее 83 % для образцов репки и зеленой массы лука.

11. Выполнение измерений

11.1. В инжектор хроматографа вводят 5 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (п. 10.1—10.3), анализируют при условиях п. 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

11.2. Для каждого образца репки и зеленой массы повторяют операции по п. 10.1—10.3, 11.1.

12. Обработка результатов измерений

12.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации.

Альтернативная обработка результатов.

Массовую долю имидаклоприда X, мг/кг в образцах зеленой массы и репки лука рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{H_0 \cdot m \cdot 0,83}, \text{ где} \quad (2)$$

H_1 –площадь пика имидаклоприда в образце, мкВ · с;

H_0 – площадь пика имидаклоприда в стандартном растворе, мкВ · с;

A – концентрация стандартного раствора имидаклоприда, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с силикагелем и последующего хроматографического определения, г;

0,83 – коэффициент извлечения имидаклоприда, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений массовой доли имидаклоприда, мг/кг;

r – значение предела повторяемости, % (табл.).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики.

12.3. Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$\bar{X} \pm 0,01 \cdot \delta \cdot \bar{X}, \text{ при } P = 0,95, \text{ где}$$

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

$\pm \delta$ – границы относительной погрешности измерений, % (табл.).

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

«*массовая доля имидаклоприда в пробах репки и зеленой массы лука менее 0,05мг/кг*»*.

*– 0,05 мг/кг – предел обнаружения.

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал имидаклоприда, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,2 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой и анализируют в соответствии с данной методикой.

13. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

13.1. Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

13.2. Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

13.3. Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предела воспроизводимости (R):

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

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

R – предел воспроизводимости (%), рассчитываемый по формуле $R = 2{,}8 \cdot \sigma_R$.

Если предел воспроизводимости не превышен, то приемлемы все результаты измерений и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если предел воспроизводимости превышен, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 (п. 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 (п. 5.3.4).

14. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 («Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»), используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по п. 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—02 и показателя правильности по п. 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—02.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

gost.e-ecolog.ru