

**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**

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 эмаектина (эмаектина 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 эмаектина
(эмаектина бензоата) в яблоках и яблочном соке
методом высокоэффективной
жидкостной хроматографии**

**Методические указания
МУК 4.1.2936—11**

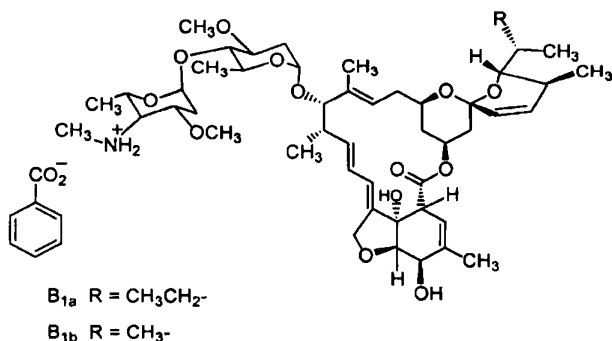
Свидетельство о метрологической аттестации № 0082.20.04.11 от 25.04.2011.

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

Эмаектин бензоат – смесь эмаектина бензоата V_{1a} и эмаектина бензоата V_{1b} . Содержание компонента V_{1a} не менее 90 %.

Эмаектин бензоат V_{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-*O*-метил-4-*O*-(2,4,6-тридеокси-3-*O*-метил-4-метиламино- α -L-ликсо-гексопиранозил)- α -L-арабино-гексопиранозид

Эмаектин бензоат V_{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'-дигидро-2 Н-пиран)-12-ил 2,6-дидеокси-3-*O*-метил-4-*O*-(2,4,6-тридеокси-3-*O*-метил-4-метил-амино- α -L-ликсо-гексопиранозил)- α -L-арабино-гексопиранозид



Компонент:	R:	Эмпирическая формула:	Молекулярная масса:
эмаектин бензоат V_{1a}	CH_2-CH_3	$\text{C}_{56}\text{H}_{81}\text{NO}_{15}$	1008,3
эмаектин бензоат V_{1b}	CH_3	$\text{C}_{56}\text{H}_{79}\text{NO}_{15}$	994,2

Эмаектин 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/см³ (23 °С). Давление паров: 4×10^{-6} Па (25 °С). Растворимость в воде (при 25 °С): 0,31 г/дм³ (дистиллированная вода, рН 6,5), 0,32 г/дм³ (буферный раствор, рН 5), 0,024 г/дм³ (буферный раствор, рН 7), 0,0001 г/дм³ (буферный раствор, рН 9). Растворимость в органических растворителях (г/дм³, 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 $\log P_{ow}$ $3,0 \pm 0,1$ (рН 5), $5,0 \pm 0,2$ (рН 7), $5,9 \pm 0,3$ (рН 9). Гидролитически стабилен при рН 5—8 (25 °С). Через 6 недель при рН 9 (25 °С) отмечена деградация, DT_{50} 19,5 недель. Подвержен быстрой фотодegradации, 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/дм³ (4 ч).

Область применения:

Эмаектин – несистемный инсектицид кишечного-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-найденно	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	$\pm 2,04$
Яблочный сок	0,005	0,005—0,05	88,89	3,77	$\pm 2,01$

2. Метод измерений

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

на концентрирующих патронах Oazis® HLB, превращения вещества во флуорогенное (N-трифторацетилованное) 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 $\pm 0,038$ 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

Эмаектин бензоат (МК244), аналитический стандарт с содержанием действующего вещества (98,1 \pm 0,3) % (В1а 94,4 %, В1б 3,7 %), СА Reg. № 155569-912-8 (фирма «Syngenta»)	ТУ 6-09-14-2167—84
Ацетонитрил для хроматографии, хч	
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная)	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
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид,
пентоксид фосфора)

ГОСТ 6995—77
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
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)
Воронки конусные диаметром 30—35 мм
Гомогенизатор
Груша резиновая
Колбы грушевидные (круглодонные) на шлифе
емкостью 20—25 см³
Колбы плоскодонные (конические) с пришлифованной пробкой емкостью 50 и 250 см³
Лед
Мембранные фильтры микропористые, марки ММК, капроновые, диаметром 50 мм, размер пор 0,45 мкм
Набор для фильтрации растворителей через мембрану
Насос водоструйный вакуумный
Патроны для твердофазной экстракции Oasis[®] HLB 3cc (60 mg), WAT094226, Lot № 077B37297C (Waters, США)
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Vuchi, 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 см³

ТУ 64-1-2851—78
ГОСТ 25336—82
ТУ 9398-005-0576-9082—2003
ГОСТ 9737—93
ГОСТ 23932—90
ТУ 9471-002-10471723—2003
ГОСТ 25336—82

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50—100 мм³

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 не 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 Oasis® HLB.

7.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора (на 1 дм³ ацетонитрила 20 г пентоксида фосфора) не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия (на 1 дм³ 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 см³ помещают 250—300 см³ бидистиллированной воды, вносят 1 см³ ортофосфорной кислоты, доводят водой до метки, перемешивают.

7.2.2. *Приготовление подвижной фазы.* В мерную колбу вместимостью 1 000 см³ помещают 950 см³ ацетонитрила, вносят 50 см³ 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 см³/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 эмамектинина для градуировки (концентрация 200 мкг/см³).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,0200 г эмамектинина, растворяют в 50—60 см³ 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 эмамектинина для градуировки и внесения (концентрация 2 мкг/см³).* В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 1 см³ исходного раствора эмамектинина с концентрацией 200 мкг/см³ (п. 7.5.1), разбавляют ацетонитрилом до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 6 месяцев.

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

7.5.3. Рабочие растворы № 2—5 эмаектина для градуировки (концентрация 0,01—0,1 мкг/см³). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 0,5; 1,0; 2,5 и 5,0 см³ градуировочного раствора № 1 с концентрацией 2 мкг/см³ (п. 7.5.2), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией эмаектина 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см³, соответственно.

Рабочие растворы сразу после приготовления помещают в морозильную камеру, где хранят при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 6 месяцев.

7.5.4. Рабочие растворы № 2а—5а флуорогенного производного эмаектина для градуировки (соответствуют концентрации эмаектина 0,01—0,1 мкг/см³). В 4 градуированные пробирки вместимостью 10 см³ вносят по 1 см³ каждого из 4 рабочих растворов эмаектина № 2—5 (п. 7.5.3), прибавляют по 0,1 см³ 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0—5 °С, помещая пробирки на ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 см³ реактива для дериватизации (приготовленного по п. 7.4), перемешивают и выдерживают час при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку вносят по 0,6 см³ бидистиллированной воды и 3 см³ ацетонитрила, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2а—5а флуорогенного производного с концентрацией эмаектина 0,01; 0,02; 0,05 и 0,1 мкг/см³, соответственно.

Рабочие растворы сразу после приготовления помещают в морозильную камеру, где хранят при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение месяца.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (ЕЛ · с) от концентрации эмаектина в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам флуорогенного производного эмаектина № 2а—5а для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 10 мм³ 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 — эмаектина бензоата В_{1а}.

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 см³ метанола, затем 2 см³ 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 см³, добавляют порцию ацетонитрила объемом 47 см³, 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 см³ (¹/₅ часть экстракта) с помощью пипетки переносят в плоскодонную колбу вместимостью 50 см³, добавляют порцию бидистиллированной воды объемом 18 см³, 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 Oasis HLB

Пробу, полученную по п. 9.1 или 9.4, вносят с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом на концентрирующий патрон Oasis 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 см³ смеси вода–ацетонитрил (7 : 3, по объему), пропуская растворитель до нижнего края сорбента, элюаты отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 2 см³ ацетонитрила, собирая элюат непосредственно в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 20—25 см³ (при сборе элюата в пробирку и последующем переносе раствора в колбу для упаривания, пробирку необходимо обмыть дважды порциями ацетонитрила по 2—3 см³). Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха. Для полного удаления следов влаги в колбу вносят 3—5 см³ ацетонитрила и вновь упаривают. Остаток в колбе растворяют в 1 см³ 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 см³ 1-N-метилимидазола, перемешивают. Смесь охлаждают до 0—5 °С, помещая пробирки с ледяную баню, добавляют по каплям 0,3 см³ реактива для дериватизации (приготовленного по п. 7.3), перемешивают и выдерживают час при комнатной температуре. По окончании процесса в пробирку вносят 0,6 см³ бидистиллированной воды и 3 см³ 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 см³, добавляют 40 см³ 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 см³ (1/5 часть экстракта) с помощью пипетки переносят в плоскодонную колбу вместимостью 50 см³, добавляют 15 см³ 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 мм³.

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

Скорость потока элюента: 1,3 см³/мин

Ориентировочное время выхода:

эмаектин бензоат V_{1b} : 9,940—10,310 мин

эмаектин бензоат V_{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 эмаектина бензоата V_{1a} (основной пик), находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию эмаектина в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор флуорогенного производного эмаектина с концентрацией 0,1 мкг/см³, разбавляют ацетонитрилом (не более чем в 10 раз).

10. Обработка результатов анализа

Содержание эмаектина в пробе рассчитывают по формуле:

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

A – концентрация эмаектина в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику в соответствии с усредненной величиной площади хроматографического пика флуорогенного производного эмаектина бензоата V_{1a} , мкг/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для дериватизации, см³;

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):

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

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:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

*«содержание эмаектина 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_d должна удовлетворять условию:

$$C_a \geq \Delta_{\varepsilon, \bar{D}} + \Delta_{\varepsilon, \bar{D}'}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{\varepsilon, \bar{D}}$ ($\pm \Delta_{\varepsilon, \bar{D}'}$) – 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_K) рассчитывают по формуле:

$$K_K = \bar{X}' - \bar{X} - C_\delta, \text{ где}$$

\bar{X}' , \bar{X} , C_δ – 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

$$\hat{E} = \sqrt{\Delta_{\varepsilon, \bar{D}}^2 + \Delta_{\varepsilon, \bar{D}'}^2}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры (K_K) с нормативом контроля (K).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию (2),

$$|K_K| \leq K, \quad (2)$$

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)

$$\frac{2 \cdot |\bar{D}_1 - \bar{D}_2| \cdot 100}{(\bar{D}_1 + \bar{D}_2)} \leq R, \text{ где} \quad (3)$$

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).