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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флудиоксонила в репке лука, чесноке и зеленой массе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3074—13

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств флудиоксонила в репке лука, чесноке и зеленой массе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—16 с.

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Т. В. Юдина, Н. Е. Федорова, В. Н. Волкова, В. М. Волков).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 30 мая 2013 г. № 1).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 19 июля 2013 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Редактор Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 19.12.13

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0
Тираж 200 экз. Заказ 90

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
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 8(495)952-50-89

© Роспотребнадзор, 2013
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
19 июля 2013 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств флудиоксонила в репке лука, чесноке и зеленой массе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3074—13

Свидетельство об аттестации от 24.08.2012 № 0129.24.08.12.

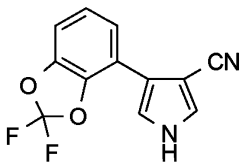
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовых концентраций флудиоксонила в репке лука, чесноке и зеленой массе в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Название действующего вещества по ИСО: флудиоксонил.

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

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{12}H_6F_2N_2O_2$.

Молекулярная масса: 248,2.

Кристаллическое вещество желтоватого цвета без запаха. Температура плавления: 199,8 °С. Давление паров при 25 °С: $3{,}9 \times 10^{-4}$ мПа. Растворимость в органических растворителях (г/дм^3 при 25 °С): ацетон –

190; этанол – 44, толуол – 2,7; н-октанол – 20; гексан – 0,0078. Растворимость в воде: 1,8 мг/дм^3 (25 °С). Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 4,12 (25 °С). Гидролитически стабилен до 70 °С в диапазоне pH 5—9.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс и мышей > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс > 2,6 мг/м^3 (4 ч).

Область применения препарата

Флудиоксонил – контактный фунгицид широкого спектра действия с продолжительной активностью.

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/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ± δ, % P = 0,95	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, %
Лук (репка)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,7	10	14
Чеснок (головка)	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,6	10	14
Зеленая масса	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	3,5	10	14

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

Таблица 2

Полнота извлечения веществ, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

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, ±, %
Лук (репка)	0,01	0,01—0,1	83,49	3,21	1,63
Чеснок	0,01	0,01—0,1	82,45	2,81	1,43
Зеленая масса	0,01	0,01—0,1	83,09	3,73	1,90

2. Метод измерений

Метод основан на определении флудиоксонила с использованием обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым и/или флуоресцентным детекторами после извлечения вещества из анализируемых образцов смесью ацетонитрил–вода (8 : 2, по объему), очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым и/или флуоресцентным детекторами с переменной длиной волны, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности ± 0,2 мг	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,01 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-500-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09

Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 и 10 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Флудиоксонил, аналитический стандарт с содержанием основного компонента 99,7 %	
Ацетон, осч	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—05
н-Гексан (гексан), для высокоэффективной жидкостной хроматографии	ТУ 6-09-06-657—84
Калий марганцово-кислый (перманганат калия), хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый (карбонат калия, поташ), хч, прокаленный	ГОСТ 4221—76
Кальций хлористый (хлорид кальция), хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 450—77
Кислота серная концентрированная, хч	ГОСТ 4204—77
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Натрий серно-кислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Натрий хлористый, хч, насыщенный водный раствор	ГОСТ 4233—77
Силикагель, для колоночной хроматографии (размер частиц 0,200—0,500 мм), нейтральный, активный	
Фосфор (V) оксид (фосфорный ангидрид, пентоксид фосфора)	ТУ 6-09-4173—85
Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), хч	ГОСТ 22300—76

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующих дополнительной очистки растворителей.

3.3. Вспомогательные средства измерений, устройства и материалы

Аппарат для встряхивания проб	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц	
Барометр-анероид с диапазоном измерений от 79,5 до 106,5 и ценой деления 0,1 кПа	ТУ 25-11-1316—76
Бумажные фильтры средней плотности	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронка делительная вместимостью 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Воронки химические стеклянные конусные	ГОСТ 25336—82
Гигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 30 до 90 %	ТУ 25-11-1645—84
Гомогенизатор	
Груша резиновая	ТУ 9398-05-0576-9082—03
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы конические (плоскодонные) вместимостью 100, 400—500 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 25, 150, 250 и 500 $см^3$	ГОСТ 9737—93
Колонка стеклянная для препаративной хроматографии длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Мембранные фильтры микропористые, капроновые диаметром 50 мм, размер пор 0,45 мкм	ТУ 9471-002-10471723—03
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар	
Стаканы химические, вместимостью 100, 500 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Термометр с диапазоном измерений от 0 до 55 °С и ценой деления 0,1 °С	ГОСТ 28498—90
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая колонка стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 5 мкм	

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

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

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, 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), установленные 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 оператора

К выполнению измерений допускают специалиста, прошедшего обучение, освоившего методику, владеющего техникой, имеющего опыт работы на жидкостном хроматографе и подтвердившего соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

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

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

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетон

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия и прокаленным карбонатом калия или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.1.2. Ацетонитрил

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).

7.1.3. н-Гексан

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.4. Хлористый метилен и этилацетат

7.1.4.1. Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %. Навеску (25 ± 0,1) г натрия углекислого помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде, доводят водой до метки, перемешивают.

7.1.4.2. Очистка растворителей. Каждый растворитель промывают последовательно 5 %-м водным раствором натрия углекислого, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над прокаленным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 30.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 500 $см^3$ ацетонитрила, вносят 500 $см^3$ бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2) при скорости подачи растворителя 0,8 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление градуировочных растворов

7.4.1. Исходный раствор флудиоксонила для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают

0,010 г флудиоксонила, растворяют в 50—70 см^3 ацетонитрила, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение 3 месяцев.

Градуировочные растворы № 2—5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора.

7.4.2. Раствор № 1 флудиоксонила для градуировки и внесения (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10,0 см^3 исходного раствора флудиоксонила с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.4.1), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике при 4—6 °С в течение 3 месяцев.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено–найдено» и контроле точности методом «добавок».

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

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 0,5; 1,0; 2,5 и 5 см^3 раствора № 1 флудиоксонила с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.4.2), доводят до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией флудиоксонила 0,05; 0,1; 0,25 и 0,5 мкг/см^3 соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике при 4—6 °С в течение месяца.

7.5. Установление градуировочной характеристики

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площадей пиков от концентрации флудиоксонила в растворе, устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки № 2—5.

В инжектор хроматографа вводят 50 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений.

7.6. Приготовление смеси гексан–этилацетат для очистки экстрактов на колонке с силикагелем

Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 8 : 2). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 80 см^3 гексана и 20 см^3 этилацетата, перемешивают.

7.7. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм уплотняют тампоном из стекловаты, выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля в 30 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который

помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 20 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду. Колонка готова к работе.

7.8. Проверка хроматографического поведения флудиоксонила на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 флудиоксонила с концентрацией 10 мкг/см^3, упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему), помещая на ультразвуковую баню на 40—60 с, и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.7. Колбу обмывают дважды этой же смесью растворителей порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 40 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, элюат отбрасывают.

Затем колонку промывают 60 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ, анализируют содержание флудиоксонила по п. 9.4.

Фракции, содержащие флудиоксонил, объединяют и вновь анализируют.

Примечание. Проверку хроматографического поведения флудиоксонила следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. 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», ГОСТ 7977—87 «Чеснок свежий заготовляемый и поставляемый. Технические условия», ГОСТ 27569—87 «Чеснок свежий, реализуемый. Технические условия», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (от 21.08.79 № 2051—79).

Отобранные пробы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 5 дней. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Перед анализом образцы измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

Измельченный образец массой 20 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250—300 см^3, вносят 100 см^3 смеси ацетонитрил–вода (8 : 2, по объему) и помещают на встряхиватель на 1 ч.

Пробе дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной бумажный фильтр средней плотности. Осадок на фильтре промывают 30 см^3 смеси ацетонитрил–вода (8 : 2, по объему). Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в мерный цилиндр, перемешивают, измеряют объем раствора, ½ его часть (эквивалентную 10 г образца) переносят в делительную воронку на 100—250 см^3 и очищают в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.2, затем на колонке с силикагелем по п. 9.3.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К аликвоте экстракта пробы (½ часть), находящейся в делительной воронке, добавляют 20 см^3 гексана, интенсивно встряхивают 1 мин. Верхний гексановый слой отбрасывают. Нижнюю ацетонитрильную фазу переносят в колбу для упаривания на 250 см^3 и упаривают до водного остатка (5—10 см^3) при температуре 35—40 °С.

Водный остаток в колбе переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, добавляют 70 см^3 дистиллированной воды, 20 см^3 насыщенного хлористого натрия и 20 см^3 смеси гексан–трет-бутилметиловый эфир (4 : 1, по объему), предварительно обмыв ими колбу, в которой находилась проба, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, после полного разделения фаз верхний слой собирают, нижний водный слой возвращают в воронку и экстракцию повторяют новой порцией смеси гексан–метил–третбутиловый эфир объемом 20 см^3. Нижний водный слой отбрасывают.

Объединенный экстракт фильтруют через слой (около 2 см) безводного сульфата натрия, помещенного на бумажном фильтре в химическую воронку, в круглодонную колбу для упаривания вместимостью 150 см^3, упаривают досуха. Остаток растворяют в 3 см^3 смеси гексан–этилацетет (8 : 2, по объему) и очищают на колонке с силикагелем по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Растворенный в 3 см^3 смеси гексан–этилацетат (8 : 2, по объему) остаток наносят на колонку, подготовленную по п. 7.7. Колбу обмывают смесью гексан–этилацетат дважды (8 : 2, по объему), порциями по 3 см^3, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя

через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 40 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2, элюат отбрасывают.

Флудиоксонил элюируют с колонки 50 см^3 смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 8 : 2 со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 см^3, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С, остаток растворяют в 2 см^3 подвижной фазы и анализируют содержание флудиоксонила по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым и/или флуоресцентным детекторами с переменной длиной волны, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки.

Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (50 : 50, по объему).

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

Объем вводимой пробы: 50 мм^3.

Линейный диапазон детектирования 2,5—25 нг.

1. Ультрафиолетовый детектор с переменной длиной волны

Рабочая длина волн: 268 нм.

2. Флуоресцентный детектор с переменной длиной волны

Длина волны: возбуждение 265 нм;
эмиссия 312 нм.

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площадь пика вещества, находят среднее значение, с помощью градуировочной характеристики определяют концентрацию флудиоксонила в хроматографируемом растворе.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 0,5 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2, не более чем в 50 раз.

Примечание. Идентификация с применением 2 альтернативных детекторов повышает надежность определения.

10. Обработка результатов анализа

Содержание флудиоксонила в пробе (X, мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$\tilde{O} = \frac{\tilde{N}\,\text{Ч}V\,\text{Ч}K}{m}, \text{ где}$$

C – концентрация флудиоксонила, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемого образца, г;

K – коэффициент, учитывающий объем аликвоты экстракта, используемый для анализа (равен 2).

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

$$\frac{2\left|\tilde{O}_1 - \tilde{O}_2\right| 100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \le r, \text{ где} \qquad (1)$$

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:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

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

«*содержание флудиоксонила в пробе менее 0,01 мг/кг*».*

* 0,01 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

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

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание флудиоксонила в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,05 до 0,5 кг/см^3.

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

$$\grave{A} = \frac{|\tilde{O} - \tilde{N}| \text{Ч} 00}{\tilde{N}} \text{J} \ B, \text{ где}$$

X – концентрация флудиоксонила в пробе при контрольном измерении, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора флудиоксонила, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

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

Если величина расхождения (A) превышает 10 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов флудиоксонила, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.5.

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:

$$\tilde{N}_д \text{ i } \text{D}_{\ddot{e},\tilde{o}} + \text{D}_{\ddot{e},\tilde{o}\ddot{y}}, \text{ где}$$

$\pm \text{D}_{\ddot{e},\tilde{o}}$ ($\pm \text{D}_{\ddot{e},\tilde{o}\ddot{y}}$) – 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:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

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

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

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$\hat{E} = \sqrt{D^2_{\ddot{e},\bar{o}\bar{y}} + D^2_{\ddot{e},\bar{o}}}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

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 предел воспроизводимости (R):

$$\frac{2\text{Ч}|\tilde{O}_1 - \tilde{O}_2|\text{Ч}100}{(\tilde{O}_1 + \tilde{O}_2)} \text{ J } R, \text{ где} \qquad (3)$$

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 концентраций, табл. 1), %.

Если выполняется условие (3), то воспроизводимость измерений считается удовлетворительной.

При превышении норматива контроля воспроизводимости эксперимент повторяют, при повторном превышении указанного норматива выясняют причины и по возможности их устраняют.