Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств диметоморфа в корнеплодах моркови, семенах и масле подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3029—12

Издание официальное

Москва
2013

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств диметоморфа в корнеплодах моркови, семенах и масле подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3029—12

ББК 51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств диметоморфа в корнеплодах моркови, семенах и масле подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—20 с.

ISBN 978—5—7508—1196—0

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Т. В. Юдина, М. В. Ларькина, С. К. Рогачева).
2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 3 июля 2012 г.
4. Введены в действие с момента утверждения.
5. Введены впервые.

ББК 51.23

Редактор Н. В. Кожока

Технический редактор А. А. Григорьев

Подписано в печать 28.03.13

Формат 60×88/16 Печ. л. 1,25
Тираж 200 экз. Заказ 21

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

Содержание

1. Метрологические характеристики 5
2. Метод измерений 6
3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы 7
4. Требования безопасности 10
5. Требования к квалификации операторов 10
6. Условия измерений 10
7. Подготовка к выполнению измерений 11
8. Отбор и хранение проб 14
9. Выполнение определения 15
10. Обработка результатов анализа 17
11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений 17
12. Оформление результатов 18
13. Контроль качества результатов измерений 18

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,
Г. Г. Онищенко
3 июля 2012 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств диметоморфа в корнеплодах моркови, семенах и масле подсолнечника методом капиллярной газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3029—12

Свидетельство о метрологической аттестации № 00114.27.02.12 от 27.02.2012.

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии для определения массовых концентраций диметоморфа в корнеплодах моркови, семенах и масле подсолнечника в диапазоне 0,01—0,1 мг/дм³ (морковь и масло подсолнечника) и 0,02—0,2 мг/кг (семена подсолнечника).

Диметоморф

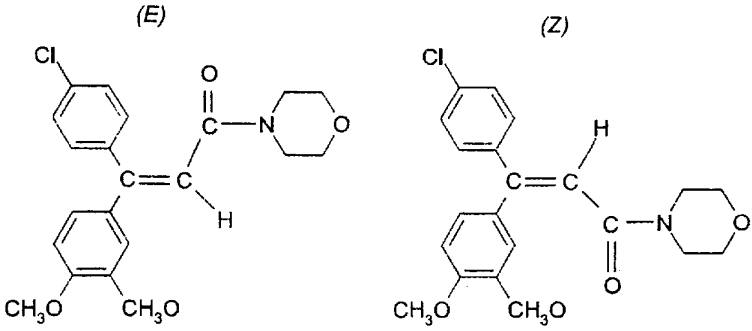
(E,Z)-4-[3-(4-(хлорфенил)-3-(3,4-диметоксифенил)акрилоил]морфолин (IUPAC)

$C_{21}H_{22}ClNO_4$

Мол. масса 387,9

Смесь (E)- и (Z)-изомеров в соотношении 1 : 1.

Бесцветное кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления 127—148 °С; (E)-изомер 135,7—137,5 °С, (Z)-изомер 169,2—170,2 °С. Давление паров при 25 °С: (E)-изомер $9,7 \cdot 10^{-4}$ мПа, (Z)-изомер $1,0 \cdot 10^{-3}$ мПа. Растворимость в органических растворителях смеси (E)- и (Z)-изомеров (г/дм³): гексан – 0,11; метанол – 39; этилацетат – 48,3; толуол – 49,5; ацетон – 100, дихлорметан – 461. Растворимость в воде при 20 °С (мг/дм³): 19 (pH 5), 18 (pH 7), 16 (pH 9). Коэффициент распределения н-октанол – вода (20 °С)



K_{ow}logP = 2,63 (E)-изомер; 2,73 (Z)-изомер. Гидролитически и термически стабилен при нормальных условиях. Устойчив более 5 лет в темноте. (E)- и (Z)-изомеры на солнечном свету подвержены взаимопревращению.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 3 500—4 300 мг/кг, мышей – 3 700—5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс > 4,2 мг/дм^3 (4 ч).

Область применения препарата

Диметоморф – системный фунгицид для борьбы с заболеваниями, вызываемыми оомицетами, является хорошим защитным и противоспоровым средством.

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	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Морковь	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,2	7	10
Семена подсолнечника	от 0,02 до 0,2 вкл.	50	2,9	9	13
Масло подсолнечника	от 0,01 до 0,1 вкл.	50	2,9	9	13

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, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Морковь	0,01	0,01—0,1	91,82	2,4	1,3
Семена подсолнечника	0,02	0,02—0,2	82,83	2,9	1,6
Масло подсолнечника	0,01	0,01—0,1	83,87	2,7	1,5

2. Метод измерений

Метод основан на определении диметоморфа с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронно-захватным детектором (ЭЗД) после извлечения вещества

из анализируемых образцов ацетонитрилом, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с флорисилом.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный электронно-захватным детектором с пределом детектирования по линдану $3{,}5 \cdot 10^{-14}$ г/с, предназначенный для работы с капиллярной колонкой	Номер Госреестра 14516—08
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104—2001
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ОСТ 24104—2001
Колбы мерные вместимостью 2-100-2	ГОСТ 1770—74
Меры массы	ГОСТ 7328—2001
Микрошприц типа SGE-Cromatek, вместимостью 10 мм^3	Номер Госреестра 39206—08
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 см^3	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100 см^3	ГОСТ 1770—74

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

3.2. Реактивы

Диметоморф, аналитический стандарт с содержанием действующего ве-

щества (99,6 ± 1,0) %, CAS № 67306-03-0, (фирма «БАСФ»)	
Азот газообразный нулевой, марка А (99,999%) в баллонах	ТУ 6-21-39—96
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-14-2167—84
Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистилированная)	ГОСТ Р 52501—2005
н-Гексан (гексан), для ВЭЖХ	ТУ 6-09-06-657—84
Изопропиловый спирт, осч	ТУ 6-09-07-1718—91
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
Натрий серно-кислый (сульфат натрия) безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый (карбонат натрия), хч	ГОСТ 83—79
Флорисил, для колоночной хроматографии (60—100 меш) фирм «SERVA», «MERK» (Германия) или аналогичный	
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 иных производителей с более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	

Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 2642-001-05015242—07
Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—80
Воронка делительная вместимостью 250 и 500 см^3	ГОСТ 9737—93
Воронки стеклянные конусные типа В-36-80 ХС и В-56-80 ХС	ГОСТ 25336—82
Гомогенизатор	
Груша резиновая	ТУ9398-05-0576-9082—2003
Колба Бунзена	ГОСТ 25336—82
Колбы конические (плоскодонные) вместимостью 100, 250—300 см^3	ГОСТ 23932—90
Колбы круглодонные на шлифе (для упаривания) вместимостью 10, 150 см^3	ГОСТ 9737—93
Колонка стеклянная для препаративной хроматографии, длиной 25 см, внутренним диаметром 10—12 мм	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 25336—82
Стаканы химические вместимостью 100, 250 см^3	ГОСТ 25336—82
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 30	
Ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая колонка капиллярная DB-1701, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм	

Примечание. Допускается использование других вспомогательных устройств аналогичного назначения, технические характеристики которых не уступают указанным, а также материалов, обеспечивающих нормативы точности при проведении измерений.

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—2009, а также требования, изложенные в технической документации на газовый 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 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—90.

4.3. При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см^2), необходимо соблюдать «Правила устройства и безопасной эксплуатации стационарных компрессорных установок, воздухопроводов и газопроводов под давлением», ПБ-03-576—03. Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалиста, имеющего квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на газовом хроматографе, освоившего данную методику и подтвердившего 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 газовом 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, растворов внесения, установление градуировочной характеристики, приготовление смесей растворителей для очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с флорисилом, проверка хроматографического поведения диметоморфа на ней.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Ацетонитрил

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

7.1.2. 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.

7.1.3. Этилацетат

7.1.3.1. 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.

7.1.3.2. Очистка растворителя

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. Приготовление градуировочных растворов

7.2.1. Исходный раствор диметоморфа для градуировки (концентрация 200 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,02 г диметоморфа, растворяют в 50—70 см³ этилацетата, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.2.2. Раствор № 1 диметоморфа для градуировки (концентрация 20 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10,0 см³ исходного раствора диметоморфа для градуировки с концентрацией 200 мкг/см³ (п. 7.2.1), доводят до метки гексаном, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.2.3. Рабочие растворы № 2—5 диметоморфа для градуировки (концентрация 0,2—2,0 мкг/см³)

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1,0; 2,5; 5,0 и 10,0 см³ раствора № 1 диметоморфа с концентрацией 20 мкг/см³ (п. 7.2.2), доводят до метки гексаном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—5 с концентрацией диметоморфа 0,2; 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/см³ соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике не более 14 дней.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость суммы площадей хроматографических пиков E- и Z-изомеров (мВ · с) от концентрации диметоморфа в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки № 2—5.

В инжектор хроматографа вводят 1 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

Устанавливают суммы площадей пиков изомеров действующего вещества, на основании которых строят градуировочную зависимость.

7.4. Приготовление смесей гексан–этилацетат для очистки экстрактов на колонке

7.4.1. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 9 : 1).

В мерную колбу вместимостью 250 см³ помещают 225 см³ гексана и 25 см³ этилацетата, перемешивают.

7.4.2. Смесь гексан–этилацетат (объемное соотношение 7 : 3)

В мерную колбу вместимостью 250 см³ помещают 175 см³ гексана и 75 см³ этилацетата, перемешивают.

7.5. Приготовление растворов внесения

7.5.1. Исходный раствор диметоморфа для внесения (концентрация 100 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,01 г диметоморфа, растворяют в 50—70 см³ изопропанола, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

7.5.2. Раствор № 1 диметоморфа для внесения (концентрация 10 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10,0 см³ исходного раствора диметоморфа для внесения с концентрацией 100 мкг/см³ (п. 7.5.1), доводят до метки изопропанолом, тщательно перемешивают.

Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

7.6. Подготовка колонки с флорисилом 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 4 г флорисила в 30 см³ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, на который помещают слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку последовательно промывают смесями гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, затем – 9 : 1, порциями по 30 см³, скорость прохождения растворителя 1—2 капли в секунду. Колонка готова к работе.

7.7. Проверка хроматографического поведения диметоморфа на колонке с флорисилом

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,5 см³ раствора № 1 диметоморфа для внесения с концентрацией

10 мкг/см³ (п. 7.5.2.), упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 3 см³ смеси гексан–этилацетат (9 : 1, по объему), помещая на ультразвуковую баню на 40—60 с, и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды этой же смесью растворителей, порциями по 3 см³, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 30 см³ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 9 : 1, затем 100 см³ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, элюат отбрасывают.

Затем колонку промывают 120 см³ смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 10 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 см³ смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему), анализируют содержание диметоморфа по п. 9.3.

Фракции, содержащие диметоморф, объединяют и вновь анализируют.

Устанавливают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

Примечание. Проверку хроматографического поведения диметоморфа 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: морковь – ГОСТ 1721—85 «Морковь столовая свежая, заготавливаемая и поставляемая. Технические условия»; подсолнечник – ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 22391—89 «Подсолнечник. Требования при заготовках и поставках», ГОСТ 12036—85 «Семена сельскохозяйственных культур. Правила приемки и методы отбора проб»; масло – ГОСТ 52465—2005 «Масло подсолнечное. Технические условия», ГОСТ Р 52062—2003 «Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Отобранные пробы моркови хранят в полиэтиленовой таре в холодильнике не более недели. Для длительного хранения образцы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Семена подсушивают в темноте до постоянного веса и хранят в тканевых мешочках в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре не более 6 месяцев. Для длительного хранения

образцы замораживают и хранят при температуре −18 °С. Перед анализом образцы семян измельчают.

Пробы масла (помещенные в стеклянные флаконы) хранят в холодильнике в темноте.

9. Выполнение определения

9.1. Морковь и семена подсолнечника

9.1.1. Экстракция

Измельченные образцы моркови или семян подсолнечника массой 20 г помещают в коническую колбу на 250—300 см³, добавляют 70 см³ ацетонитрила и помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин.

Пробам дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют на воронке Бюхнера с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, через двойной фильтр «красная лента». В коническую колбу с пробой вносят новую порцию ацетонитрила объемом 50 см³ и повторно экстрагируют на аппарате для встряхивания в течение 20 мин, затем раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Фильтр промывают ацетонитрилом, порцией 20 см³.

Объединенный отфильтрованный экстракт переносят в делительную воронку на 250 см³ и подвергают очистке по п. 9.1.2.

9.1.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К ацетонитрильному экстракту, полученному по п. 9.1.1 и помещенному в делительную воронку на 250 см³, добавляют 30 см³ гексана, интенсивно встряхивают в течение 2—3 мин. После полного разделения слоев верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт возвращают в делительную воронку и повторяют очистку с новой порцией гексана объемом 30 см³.

Затем ацетонитрильный раствор переносят в колбу для упаривания на 150 см³, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35 °С. Сухой остаток подвергают дополнительной очистке на колонке с флорисилом по п. 9.1.3.

9.1.3. Очистка экстракта на колонке с флорисилом

Остаток, полученный по п. 9.1.2, находящийся в круглодонной колбе, растворяют в 0,5 см³ этилацетата, помещают на ультразвуковую баню на 30 с, затем добавляют 4,5 см³ гексана, выдерживая еще 1 мин на ультразвуковой бане. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Колбу обмывают дважды смесью гексан—этил-

ацетат (9 : 1, по объему) порциями по 3 см³, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в секунду. Промывают колонку 50 см³ гексана, 30 см³ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 9 : 1, затем 100 см³ смеси гексан–этилацетат в объемном соотношении 7 : 3, элюат отбрасывают.

Диметоморф элюируют с колонки 100 см³ смеси гексан-этилацетат в объемном соотношении 1 : 1 со скоростью 1—2 капли в секунду, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 150 см³, раствор упаривают досуха при температуре не выше 35 °С, остаток растворяют в 1 см³ (пробы моркови) и 2 см³ (пробы семян подсолнечника) смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) и анализируют на содержание диметоморфа по п. 9.3.

9.2. Масло

9.2.1. Экстракция

Образец масла массой 20 г помещают в коническую колбу вместимостью 200—250 см³, растворяют в 100 см³ гексана, переносят в делительную воронку вместимостью 500 см³, добавляют 50 см³ ацетонитрила. Воронку интенсивно встряхивают 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой осторожно декантируют через бумажный фильтр, помещенный в конусную воронку, в химический стакан вместимостью 250 см³. Экстракцию повторяют новой порцией ацетонитрила объемом 30 см³.

Растворы объединяют, переносят в делительную воронку на 250 см³ и подвергают очистке в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с флорисилом по пп. 9.1.2 и 9.1.3, остаток после упаривания растворяют в 1 см³ смеси гексан–этилацетат (1 : 1, по объему) и анализируют на содержание диметоморфа по п. 9.3.

9.3. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф, снабженный электронно-захватным детектором.

Колонка капиллярная DB-1701, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки сорбента 0,25 мкм.

Температура: детектора – 320 °С, испарителя – 300 °С

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 130 °С, выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 25 °/мин до температуры 280 °С, выдержка 16 мин.

Скорость газа 1 (азот): давление 80 кПа, 33,12 см/с, поток 1,625 см³/мин.

Газ 2 (азот): деление потока 1 : 3; сброс 6,9 см³/мин.

Хроматографируемый объем: 1 мм³.

Ориентировочное время выхода диметоморфа:
Z-изомер ~ 19 мин
E-изомер ~ 20 мин.
Линейный диапазон детектирования: 0,2—2,0 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем градуировочный раствор с концентрацией 2,0 мкг/см^3, разбавляют смесью гексан—этилацетат (1 : 1, по объему) не более, чем в 50 раз.

10. Обработка результатов анализа

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

$$X = \frac{C \cdot V}{m}, \text{ где}$$

C – концентрация диметоморфа, найденная по градуировочной характеристике в соответствии с величиной суммы площадей хроматографических пиков Z- и E-изомеров, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемого образца, 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):

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

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:

$$\left(\overline{X} \pm \Delta\right) \text{ при вероятности } P = 0{,}95, \text{ где}$$

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг.

$$\Delta = \frac{\delta \times X}{100}, \text{ где}$$

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 диметоморфа в пробе моркови и масле подсолнечника менее – 0,01 мг/кг, семян подсолнечника – 0,02 мг/кг»**

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. 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 диметоморфа в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,2 до 2,0 мкг/см³.

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

---

* 0,01, 0,02 мг/кг – пределы обнаружения диметоморфа в пробах моркови, масла и семян подсолнечника, соответственно.

$$A = \frac{(X - C) \times 100}{C} \leq 12{,}0, \text{ где}$$

X – концентрация диметоморфа в пробе при контрольном измерении, мкг/см³;

C – известная концентрация градуировочного раствора диметоморфа, взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см³;

12 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (А) превышает 12 %, 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 диметоморфа, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики устанавливают ее заново согласно п. 7.3.

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа

Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д \geq \Delta_{л,\bar{X}} + \Delta_{л,\bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm\Delta_{л,\bar{X}}\left(\pm\Delta_{л,\bar{X}'}\right)$ – 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:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг.

$$\Delta = \frac{\delta \times X}{100}, \text{ где}$$

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности, табл. 1), %.

Контрольный параметр процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д \text{ , где}$$

$\overline{X'}, \overline{X}, C_д$ – 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 K рассчитывают по формуле

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л.\overline{X'}} + \Delta^2_{л.\overline{X}}}$$

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 предела воспроизводимости (R)

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{X_1 + X_2} \le R \text{ , где} \qquad (3)$$

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), %.