Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств метобромурона и 4-бромфенилмочевины в семенах подсолнечника, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3323—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

Определение остаточных количеств метобромурона и 4-бромфенилмочевины в семенах подсолнечника, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3323—15

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств метобромурона и 4-бромфенилмочевины в семенах подсолнечника, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016.—16 с.

ISBN 978—5—7508—1471—8

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» (В. И. Долженко, А. С. Комарова, В. В. Человечкова) и ООО «Инновационный центр защиты растений» (И. А. Цибульская, Т. Д. Черменская).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 17 декабря 2015 г. № 2).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 28 декабря 2015 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редакторы Н. В. Кожока, Ю. А. Паршина
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 4.08.16

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 125 экз. Заказ 57

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
28 декабря 2015 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств метобромурона и 4-бромфенилмочевины в семенах подсолнечника, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3323—15

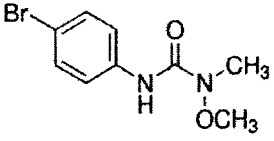
Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.198/01.00043/2015.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения остаточных количеств метобромурона и 4-бромфенилмочевины в семенах подсолнечника, бобах сои и растительном масле в диапазоне концентраций 0,05–0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Метобромурон

3-(4-бромфенил)-1-метокси-1-метилмочевина (ИЮПАК)



$C_9H_{11}BrN_2O_2$

Молекулярная масса: 259,1.

Химически чистое вещество представляет собой бесцветные кристаллы.

Температура плавления: 95—96 °С.

Давление пара при 25 °С: 0,4 МПа.

Растворимость в воде: 330 мг/дм^3 (при 20 °С).

Растворимость в органических растворителях (г/дм^3 при 20 °С): гептан < 10; дихлорметан, ацетон, метанол, этилацетат > 250.

Стабильность к гидролизу: стабилен, при 20 °С: DT_{50} = 170 дней (pH 7).

Период полураспада в почве: DT_{50} = 34 дня.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD_{50} для млекопитающих (для крыс) > 10 000 мг/кг. Оказывает раздражающее действие на кожу, слизистую глаз и дыхательные пути.

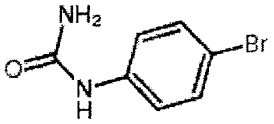
Область применения препарата. Предвсходовый гербицид для борьбы с широколиственными сорняками и однолетними травами, адсорбируется корнями и листьями.

Механизм действия. Ингибирование фотосинтеза.

4-Бромфенилмочевина

4-Бромфенилмочевина (ИЮПАК).

Основной метаболит метобромурона в почве и растениях.



$C_7H_7BrN_2O$

Молекулярная масса: 215.0.

Химически чистое вещество представляет собой бесцветные кристаллы.

Температура плавления: 225—227 °С.

В России для метобромурона и 4-бромфенилмочевины гигиенические нормативы не установлены.

1. Погрешность измерений

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 и 2, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры для метобромурона

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности* (границы относительной погрешности), ± δ, % (P = 0,95)	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), 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, % (P = 0,95)
Семена подсолнечника	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Бобы сои	0,05—0,5	22	6	10	17	28
Растительное масло	0,05—0,5	22	7	11	20	31
* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата k = 2						

Таблица 2

Метрологические параметры для 4-бромфенилмочевины

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности*) (границы относительной погрешности), ± δ, % (P = 0,95)	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), 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, % (P = 0,95)
Семена подсолнечника	0,05—0,5	23	8	12	22	34
Бобы сои	0,05—0,5	23	8	12	22	34
Растительное масло	0,05—0,5	24	9	12	25	34
* Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата k = 2						

Таблица 3

Полнота извлечения метобромурона, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$; $n = 20$				
	предел количественного определения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ± %
Семена подсолнечника	0,05	0,05—0,5	88,5	3,39	4,76
Бобы сои	0,05	0,05—0,5	82,4	3,95	5,55
Растительное масло	0,05	0,05—0,5	85,4	4,02	5,63

Таблица 4

Полнота извлечения 4-бромфенилмочевины, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$; $n = 20$				
	предел количественного определения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, %	доверительный интервал среднего результата, ± %
Семена подсолнечника	0,05	0,05—0,5	81,8	3,51	4,92
Бобы сои	0,05	0,05—0,5	82,7	2,84	3,99
Растительное масло	0,05	0,05—0,5	84,8	3,50	4,90

2. Метод измерений

Методика основана на определении метобромурона и 4-бромфенилмочевины методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием УФ-детектора после их извлечения из образцов ацетонитрилом и очистке на патроне для твердофазной экстракции.

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

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Весы аналитические	ГОСТ 53228—08
Весы технические	ГОСТ 53228—08
Колбы мерные на 10, 100, 1 000 $см^3$	ГОСТ 23932—90
Микродозаторы одноканальные переменного объема 100—1 000 $мм^3$ и 1—5 $см^3$	
Цилиндры мерные на 50, 100, 500 $см^3$	ГОСТ 23932—90

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

3.2. Реактивы

Ацетонитрил, осч	ТУ 2634-002-54260861—13
Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная, деионизованная)	ГОСТ Р 52501—05
Гексан, хч	ТУ 2631-001-54260861—13
Кислота ортофосфорная, хч	ГОСТ 6552—80
Метанол, хч	ГОСТ 6995—77
Метобромурон, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,9 %	
4-Бромфенилмочевина, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,4 %	
Этилацетат, хч	ГОСТ 22300—76
Подвижная фаза № 1: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 45 : 55	
Подвижная фаза № 2: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 20 : 80	
Смесь № 1: смесь гексана и этилацетата в соотношении 5 : 1, по объему	
Смесь № 2: смесь гексана и этилацетата в соотношении 2 : 1, по объему	
Смесь № 3: смесь гексана и этилацетата в соотношении 1 : 1, по объему	

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

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитой фазой, включающей гидрофильную карбаматную группу в цепи С18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм	
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25 и 100 см^3	ГОСТ 9737—93
Патроны для твердофазной экстракции, заполненные гидрофильным слабокислотным сорбентом на основе силикагеля по 0,4 г	ТУ 4215-002-0545-931—94
Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, с пределом вакуума до 10 мбар	
Установка для твердофазной экстракции	
Пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками объемом 50 см^3	
Устройство перемешивающее (50—200 колебаний в минуту)	ТУ 4389-007-44330709—11
Центрифуга с максимальной рабочей частотой вращения 4 000 об./мин	

Примечание. Допускается применение 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—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией, соответствовать требованиям пожарной безопасности 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 ГН 2.2.5.2308—07.

Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004—90.

5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффек-

тивной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п. 13.

6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют 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 определению

7.1. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа аналитическую колонку кондиционируют в потоке подвижной фазы (0,1—0,2 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии.

7.2. Приготовление растворов

7.2.1. 0,005 М раствор ортофосфорной кислоты: (0,5 ± 0,01) г 98 %-й ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки. Раствор хранят при комнатной температуре не более 1 месяца.

7.3. Приготовление основных и градуировочных растворов

7.3.1. Приготовление основного и градуировочных растворов метобромурона

7.3.1.1. Основной раствор метобромурона с концентрацией 1,0 мг/$см^3$: точную навеску метобромурона (50 ± 0,5) мг помещают в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки тем же растворителем.

Градуировочные растворы с концентрациями 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя в качестве растворителя подвижную фазу № 1.

7.3.1.2. Раствор № 1 с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$: в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,1 $см^3$ основного раствора метобромурона и доводят до метки подвижной фазой № 1.

7.3.1.3. Раствор № 2 с концентрацией 0,5 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5,0 см^3 раствора метобромурона № 1 и доводят до метки подвижной фазой № 1.

7.3.1.4. Раствор № 3 с концентрацией 0,2 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2,0 см^3 раствора метобромурона № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой № 1.

7.3.1.5. Раствор № 4 с концентрацией 0,1 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1,0 см^3 раствора метобромурона № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой № 1.

7.3.1.6. Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5 см^3 раствора метобромурона № 4 и доводят объем до метки подвижной фазой № 1.

7.3.2. Приготовление основного и градуировочных растворов 4-бромфенилмочевины

7.3.2.1. Основной раствор 4-бромфенилмочевины с концентрацией 1,0 мг/см^3: точную навеску 4-бромфенилмочевины (50 ± 0,5) мг помещают в мерную колбу вместимостью 50 см^3, растворяют в метаноле и доводят объем до метки тем же растворителем.

Градуировочные растворы с концентрациями 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 мкг/см^3 готовят методом последовательного разбавления по объему, используя в качестве растворителя подвижную фазу № 2.

7.3.2.2. Раствор № 1 с концентрацией 1,0 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 0,1 см^3 основного раствора 4-бромфенилмочевины и доводят до метки подвижной фазой № 2.

7.3.2.3. Раствор № 2 с концентрацией 0,5 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5,0 см^3 раствора 4-бромфенилмочевины № 1 и доводят до метки подвижной фазой № 2.

7.3.2.4. Раствор № 3 с концентрацией 0,2 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 2,0 см^3 раствора 4-бромфенилмочевины № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой № 2.

7.3.2.5. Раствор № 4 с концентрацией 0,1 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 1,0 см^3 раствора 4-бромфенилмочевины № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой № 2.

7.3.2.6. Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см^3: в мерную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5 см^3 раствора 4-бромфенилмочевины № 4 и доводят объем до метки подвижной фазой № 2.

Основные растворы можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 3 месяцев, градуировочные растворы – в течение недели.

При изучении полноты определения метобромурона и 4-бромфенилмочевины в матрицах используют растворы в ацетонитриле и метаноле соответственно.

7.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация метобромурона или 4-бромфенилмочевины в растворе) в хроматограф вводят по 10 мм^3 градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент (K) в уравнении линейной регрессии для каждого из веществ:

$$C = K S, \text{ где}$$

S – площадь пика градуировочного раствора.

Градуировку признают удовлетворительной, если значение коэффициента линейной корреляции оказывается не ниже 0,99.

Градуировочную характеристику необходимо проверять при замене реактивов, хроматографической колонки или элементов хроматографической системы, а также при отрицательном результате контроля градуировочного коэффициента.

Градуировочную зависимость признают стабильной при выполнении следующего условия:

$$\frac{|C - C_K|}{C} \cdot 100 \le \lambda_{контр.}, \text{ где}$$

C – аттестованное значение массовой концентрации метобромурона или 4-бромфенилмочевины в градуировочном растворе,

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации метобромурона или 4-бромфенилмочевины в градуировочном растворе,

$\lambda_{контр.}$ – норматив контроля градуировочного коэффициента, % ($\lambda_{контр.}$ = 10 % при P = 0,95).

7.5. Подготовка патрона для твердофазной экстракции

Патрон промывают последовательно 3 см^3 этилацетата и 3 см^3 гексана, после чего он готов к работе.

7.6. Проверка хроматографического поведения метобромурона и 4-бромфенилмочевины на патроне для твердофазной экстракции

В круглодонную колбу емкостью 10 см^3 отбирают по 1 см^3 стандартных растворов метобромурона и 4-бромфенилмочевины в ацетонитриле с концентрацией 1 мкг/см^3 и 0,1 г растительного масла (наличие масла необходимо, так как без него 4-бромфенилмочевина не растворится в гексане). Растворитель удаляют в вакууме. Остаток растворяют в 1 см^3 гексана и переносят на подготовленный патрон (п. 7.5). Колбу ополаскивают 1 см^3 гексана и также наносят на патрон. Последовательно промывают патрон 10 см^3 гексана и 3 см^3 смеси № 1, элюат отбрасывают. Метобромурон элюируют 6 см^3 смеси № 2 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 см^3, упаривают досуха, растворяют в 1 см^3 подвижной фазы № 1 и анализируют по п. 9.3. Далее промывают патрон 5 см^3 смеси № 3, элюат отбрасывают. 4-Бромфенилмочевину элюируют 8 см^3 этилацетата со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 см^3, упаривают досуха, растворяют в 1 см^3 подвижной фазы № 2 и анализируют по п. 9.4.

Фракции, содержащие метобромурон, объединяют и вновь анализируют. Фракции, содержащие 4-бромфенилмочевину, тоже объединяют и вновь анализируют.

Устанавливают уровень веществ в элюате, определяют полноту смывания с патрона и необходимый для очистки объем элюата.

Примечание. Проверку хроматографического поведения метобромурона и 4-бромфенилмочевины следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии патронов и растворителей.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб семян подсолнечника и бобов сои производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79), а также в соответствии с ГОСТ 10852—86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб». Пробы семян подсолнечника и бобов сои хранят при комнатной температуре в полотняных мешочках, перед анализом доводят до стандартной влажности и измельчают. Растительное масло хранят в холодильнике при температуре 0—4 °С в герметично закрытой стеклянной таре в течение 6 месяцев.

Для исследовательских целей допускается получение масла в день анализа в лаборатории из проб измельчённых семян или бобов с помощью лабораторного пресса.

9. Проведение определения

9.1. Определение метобромурона и 4-бромфенилмочевины в семенах подсолнечника, бобах сои и растительном масле

Пробу измельченных семян подсолнечника, бобов сои или растительного масла (10 г) помещают в полипропиленовую центрифужную пробирку объемом 50 $см^3$, добавляют 30 $см^3$ ацетонитрила, помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4 000 об./мин. Ацетонитрильный экстракт декантируют, в пробирку добавляют 20 $см^3$ ацетонитрила и экстракцию повторяют. От объединенных органических экстрактов отбирают аликвоту, соответствующую 1 г пробы, переносят в круглодонную колбу вместимостью 25 $см^3$ и упаривают растворитель на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток подвергают очистке по п. 9.2.

9.2. Очистка на патроне для твердофазной экстракции

Сухой остаток, полученный в п. 9.1, растворяют в 1 $см^3$ гексана и количественно переносят на подготовленный патрон (п. 7.5). Колбу ополаскивают 1 $см^3$ гексана и также наносят на патрон. Патрон последовательно промывают 10 $см^3$ гексана и 3 $см^3$ смеси № 1, элюат отбрасывают. Метобромурон элюируют 5 $см^3$ смеси № 2. Элюат собирают в круглодонную колбу емкостью 25 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ подвижной фазы № 1 и анализируют по п. 9.3.

Далее патрон промывают 5 $см^3$ смеси № 3, элюат отбрасывают. 4-Бромфенилмочевину элюируют 5 $см^3$ этилацетата. Элюат собирают в круглодонную колбу емкостью 25 $см^3$ и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ подвижной фазы № 2 и анализируют по п. 9.4.

9.3. Условия хроматографирования метобромурона

Ультраэффективный жидкостный хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитой фазой, включающей гидрофильную карбаматную группу в цепи С18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм. Температура колонки (30 ± 1) °С. Подвижная фаза № 1: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 45 : 55, по объему. Скорость потока элюента – 0,2 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора – 245 нм. Объем вводимой пробы – 10 $мм^3$. Время удерживания метобромурона – (4,1 ± 0,1) мин.

9.4. Условия хроматографирования 4-бромфенилмочевины

Ультраэффективный жидкостный хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитой фазой, включающей гидрофильную карбаматную группу в цепи С18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм. Температура колонки (30 ± 1) °С. Подвижная фаза № 2: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 20 : 80, по объему. Скорость потока элюента – 0,2 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора – 245 нм. Объем вводимой пробы – 10 $мм^3$. Время удерживания 4-бромфенилмочевины – (9,4 ± 0,1) мин.

10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание метобромурона или 4-бромфенилмочевины в пробе (X_i, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X_i = \frac{S_{xi} \cdot K_i \cdot V}{P}, \text{ где}$$

S_{xi} – площадь пика аналита на хроматограмме испытуемого образца, $мм^2$ (AU);

K_i – градуировочный коэффициент, найденный на стадии построения соответствующей градуировочной зависимости;

V – объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, $см^3$;

P – навеска анализируемого образца, г (аликвота, равная 1 г).

Поскольку содержание метаболита не нормируется, общее содержание действующего вещества в сумме с метаболитом – в эквиваленте действующего вещества с учетом коэффициента, определяемого по соотношению молекулярных масс соединений (k = 259/215), рассчитывается по формуле:

$$X = \frac{S_{x1} \cdot K_1 \cdot V}{P} + \frac{S_{x2} \cdot K_2 \cdot V \cdot k}{P}$$

Содержание остаточных количеств вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/кг;

r – значение предела повторяемости ($r = 2.8\sigma_r$).

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

В случае, если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде: «*содержание вещества в пробе «менее нижней границы определения*» (например: менее 0,05 мг/кг*, где * – 0,05 мг/кг – предел обнаружения метобромурона в растительном масле).

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

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится с применением метода добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm\Delta_{л,X}$ ($\pm\Delta_{л,X'}$) – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно), мг/кг; при этом:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = X' - X - C_д, \text{ где}$$

X', 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:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,X'} + \Delta^2_{л,X}} \qquad (2)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (3)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (3) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (3) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры к их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости:

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предел 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 в двух разных лабораториях, мг/кг;

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

gost.e-ecolog.ru