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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств флорасулама в кукурузном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.2453—09**

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств флорасулама в кукурузном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—16 с.

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов», Минсельхоза России (В. А. Калинин, профессор, канд. с-х. наук, Е. В. Довгилевич, ст. науч. сотр., канд. биол. наук, А. В. Довгилевич, ст. науч. сотр., канд. хим. наук, Н. В. Устименко, ст. науч. сотр., канд. биол. наук).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 декабря 2008 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 2 февраля 2009 г.

4. Введены в действие с 29 апреля 2009 г.

5. Введены впервые.

**ББК 51.21**

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 31.07.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

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 952-50-89

**© Роспотребнадзор, 2009**
**© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009**

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
2 февраля 2009 г.
Дата введения: 29 апреля 2009 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств флорасулама в кукурузном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

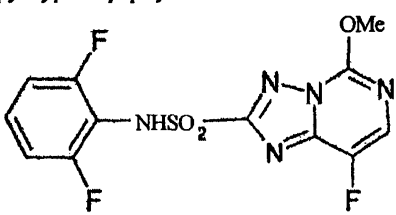
## Методические указания МУК 4.1.2453—09

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации флорасулама в диапазоне 0,025—0,25 мг/кг в кукурузном масле.

Флорасулам Название действующего вещества по ИЮПАК:

К-(2,6-дифторфенил)-8-фтор-5метокси-1,2,4-триазоло[1,5-с]пиримидин-2-сульфонамид.

Структурная формула:




$C_{12}H_8F_3N_5$ SO
Мол. масса: 359,3

Агрегатное состояние: порошок.
Цвет, запах: белого цвета.

Давление паров $1 \times 10^5$ Па (при 25 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода: $lgK_{OW}$ – 1,00, $K_{OW} = 10$ (pH 4,0); $lgK_{OW} = -1,22$, $K_{OW} = 0,0603$ (pH 7,0); $lgK_{OW} = -2,06$, $K_{OW} = 0,0087$ (pH 10,0).

Температура плавления: 193—230 °С (с разложением).

Растворимость в воде: 84 мг/л $дм^3$ (pH 5,0, 20 °С); 6,36 (pH 7,0, 20 °С); 94,2 г/$дм^3$ (pH 9,0, 20 °С); в очищенной воде – 121 мг/$дм^3$.

Растворим в органических растворителях (г/$дм^3$ при 20 °С ): ацетон – 123,0, ацетонитрил – 72,1, дихлорметан – 3,75, метанол – 9,81, этилацетат – 15,9, ксилол – 227,0 мг/л, н-гептан – 0,019 мг/$дм^3$, октанол – 184,0 мг/$дм^3$.

Константа диссоциации pKa - 4,54.

*Краткая токсикологическая характеристика:* флорасулам относится к мало опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс – более 6 000 мг/кг) и накожной ($ЛД_{50}$ для кроликов > 2 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным веществам ($ЛС_{50}$ для крыс составляет более 5 000 мг/м) по ингаляционной токсичности. Побочные отрицательные эффекты не обнаружены.

*Область применения:* флорасулам – гербицид системного действия, проникает в растения через корни и листья, но не проникает в зерно, ингибирует ацетолактатсинтазу – ключевой фермент в пути синтеза изолейцина и валина.

Флорасулам вызывает хлороз, обесцвечивание жилок и некроз в течение 2—4 недель.

В России применяется в качестве гербицида в посевах кукурузы и зерновых культур с нормой расхода 2,5—5,0 г/га по д.в. в смеси с другими гербицидами при однократной обработке в фазу кущения или 3—4 листьев кукурузы.

В России гигиенические нормативы не установлены.

## 1. Метрологическая характеристика метода

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает значений, приведенных в табл. 1 для соответствующих диапазонов концентраций.

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

Таблица 1

**Метрологические параметры для флорасулама**

| Анализируемый объект | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | Показатель точности (граница относительной погрешности), $\pm\delta$, % $P = 0,95$ | Стандартное отклонение повторяемости, $\sigma_r$, % | Предел повторяемости, $r$, % | Предел воспроизводимости, $R$, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Кукурузное масло | 0,02—0,1 вкл. | 50 | 4,0 | 11,2 | 13,4 |
| | более 0,1—0,2 | 25 | 5,0 | 14,0 | 20,0 |

Таблица 2

**Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для флорасулама**

| Анализируемый объект | Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Предел обнаружения, мг/кг | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | Среднее значение определения, % | Стандартное отклонение, $S$, % | Доверительный интервал среднего, $\pm$, % |
| Кукурузное масло | 0,025 | 0,025—0,25 | 82,2 | 3,2 | 0,72 |

## 2. Метод измерений

Метод основан на определении флорасулама с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистке перераспределением между двумя несмешивающимися фазами, последующего метилирования и очистки метильных производных на концентрирующих патронах, содержащих обращенную фазу С8.

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

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

## 3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

### *3.1. Средства измерений*

| | |
|---|---|
| Весы аналитические «OHAUS», E 11140 | |
| Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности + 0,038 г «ACCULAB» V600 | |
| Колбы мерные на 25, 50 и 100 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |
| Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50—100 мм | |
| Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$ | ГОСТ 20292—74 |
| Хроматограф жидкостной Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа, | Номер госрегистрации 15311-02 |
| Цилиндры мерные на 10, 25 и 50 $см^3$ | ГОСТ 1770—74 |

Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *3.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Флорасулам, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,2 %, фирма Дау Агросайенсис | |
| Ацетон, осч | ТУ 2633-00-4-11291058—94 |
| Ацетонитрил осч, УФ-200 нм | ТУ 6-09-2167—84 |
| Вода бидистиллированная, деионизированная | ГОСТ 7602—72 |
| Гексан, хч д/спектроскопии | ТУ 6-09-06-657—84 |
| Гелий, осч | ГОСТ 20461—75 |
| Калий марганцовокислый, чда | ГОСТ 20490—75 |
| Кислота серная концентрированная, ч | ГОСТ 4204—77 |
| Метил йодистый, МРТУ 6-09-6513-70 (перегоняют, и перегнанный реактив хранят в темной посуде в холодильнике в течение 2 месяцев) | |
| Натрий сернокислый, безводный, хч | ГОСТ 4166—76 |
| Натрий хлористый, хч | ГОСТ 4233—77 |
| Триэтиламин, ГОСТ (перегоняют, и | |

перегнанный реактив хранят в темной посуде в холодильнике в течение 2 месяцев)
Эфир диэтиловый ГОСТ 6265—74
Концентрирующие патроны Диапак С 8 (0,6 г) ТУ 4215-002-05451931—94

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *3.3. Вспомогательные устройства и материалы*

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами Диапак С 8
Аппарат для встряхивания проб «SKLO UNION TYP LT1»
Ванна ультразвуковая «UNITRA» UNIMA OLSZTYN UM-4
Воронки химические для фильтрования, стеклянные ГОСТ 8613—75
Воронки делительные на 250 см ГОСТ 10054—75
Испаритель ротационный Rota vapor Rl 10 Buchi или ИР-1М с водяной баней ТУ 25-11-917—74
Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 $см^3$, КПШ-100, КПШ-250 ГОСТ 10394—72
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, с внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма Уотерс
Колбы конические, плоскодонные объемом 250, 500 и 1000 $см^3$ ГОСТ 9737—70
Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 100 и 250 см ГОСТ 10394—75
Насос диафрагменный FT. 19 фирмы KNF Neu Laboport
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry С 18, длиной 20 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма Уотерс
Стаканы стеклянные объемом 100—500 $см^3$ ГОСТ 25366-80Е
Установка для перегонки растворителей
Фильтры бумажные, «красная лента» ТУ-6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс

Допускается применение хроматографических колонок и 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, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. 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.

## 5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе.

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 определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов Диапак С 8 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на патронах, построение калибровочной кривой.

### *7.1. Подготовка органических растворителей*

7.1.1. *Очистка ацетона.* Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия (А.Гордон, Р.Форд Спутник химика. Москва, 1976, с. 438—439).

7.1.2. *Очистка ацетонитрила.* Ацетонитрил перегоняют.

7.1.3. *Очистка гексана.* Гексан встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают бледно-розовым раствором перманганата калия до тех пор, пока раствор не перестанет обесцвечиваться, затем промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (А.Гордон, Р.Форд Спутник химика. Москва, 1976, с. 441).

7.1.4. *Очистка бидистиллированной воды.* Бидистиллят кипятят в течение 6 часов с марганцовокислым калием, добавленным из расчета 1 г/л и затем перегоняют.

7.1.5. Очистка диэтилового эфира. Диэтиловый эфир перегоняют.

### *7.2. Приготовление растворов для проведения анализа*

7.2.1. *Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ.* Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 дм$^3$ помещают 450 см$^3$ ацетонитрила и 500 см$^3$ очищенной воды. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см/мин в течение 5 мин, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 мин.

7.2.2. *Приготовление градуировочных растворов.*

7.2.2.1. *Стандартный раствор с концентрацией флорасулама 1,0 мг/см$^3$.* Взвешивают 50 мг флорасулама в мерной колбе объемом 50 см$^3$. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

7.2.2.2. *Стандартный раствор с концентрацией флорасулама 10,0 мкг/см.* Из стандартного раствора флорасулама с концентрацией 1,0 мг/см отбирают пипеткой 1 см , помещают в мерную колбу объемом 100 см$^3$ и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании.

7.2.2.3. *Стандартные растворы флорасулама с концентрацией 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см$^3$ для внесения в образцы масла.* Методом последовательного разведения ацетоном готовят растворы, содержащие по 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см$^3$ и используют эти растворы для внесения в образцы масла.

Для хроматографического исследования стандарт подвергают процедурам очистки на концентрирующих патронах и метилированию, чтобы нивелировать потери, возникающие при этих манипуляциях при очистке фортифицированных проб. Эти операции проводят каждый раз при анализе очередной партии образцов.

7.2.2.4. *Метилирование стандартов.* В круглодонную колбу объемом 100 см$^3$ помещают 1 см$^3$ стандартного раствора флорасулама в ацетонитриле с концентрацией 10,0 мкг/см$^3$. Туда же добавляют последова-

тельно 100 мкл триэтиламина и 100 мкл йодистого метила, помещают смесь в ультразвуковую ванну на 5 с и выдерживают при температуре 22—25 °С в течение часа. По истечении этого времени смесь упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе (на стенках колбы образуются белые кристаллы).

К сухому остатку добавляют 10 см$^3$ насыщенного раствора хлористого натрия, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят раствор в делительную воронку. Концентратор обмывают 10 см$^3$ диэтилового эфира, переносят его в ту же делительную воронку и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний слой (диэтиловый эфир) собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Экстракцию диэтиловым эфиром повторяют еще 2 раза, используя по 10 см растворителя. Экстракт объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток подвергают очистке на патроне Диапак С 8, элюат выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 10 см$^3$ ацетонитрила (получают метилированный стандарт с концентрацией 1,0 мкг/см$^3$). Далее методом последовательного разведения ацетонитрилом получают стандартные растворы с концентрацией 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см$^3$.

### *7.3. Установление градуировочной характеристики*

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации метилированного производного флорасулама в растворе (мкг/см$^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и ОД мкг/см$^3$.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

### *7.4. Подготовка концентрирующих Диапак С 8 для очистки экстрактов*

7.4.1. *Подготовка концентрирующего патрона Диапак С8 (0,6 г) для очистки экстракта.* Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов не должна превышать 2—2,5 см$^3$/мин.

Патрон Диапак С8 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: патрон промывают последовательно 5 см$^3$ смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1 и 10 см$^3$ очищенной воды. Элюат отбрасывают. Нельзя допускать высыхания поверхности картриджа.

7.4.2. *Проверка хроматографического поведения метилированного стандарта флорасулама на концентрирующем патроне Диапак С8.* Из раствора метилированного стандарта флорасулама в ацетонитриле, содержащего 2 мкг/см , отбирают 1 см и помещают в концентратор объемом 100 см$^3$. Добавляют туда же 9 см$^3$ очищенной воды, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Патрон промывают 10 см$^3$ смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 5, элюат собирают, упаривают досуха при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см$^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Далее патрон промывают последовательно 4 порциями по 5 см$^3$ смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1, элюат после внесения каждой порции упаривают досуха при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 1 см$^3$ ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие метилированный флорасулам и объединяют их.

7.5. *Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии.* Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 с предколонкой Symmetry C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25 °С и скорости потока подвижной фазы 1 см$^3$/мин 3—4 ч.

## 8. Отбор проб и хранение

Отбор проб 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 ГОСТ 8808—91 «Масло кукурузное, ТУ»

Пробы масла кукурузы хранят в плотно закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 0—4 °С не более 30 дней.

## 9. Проведение определений

### *9.1. Кукурузное масло*

9.1.1. *Экстракция.* Пробу масла весом 10 г помещают в химический стакан объемом 100 см$^3$ , прибавляют туда же 20 см$^3$ гексана, тщательно перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 см$^3$ . Химический стакан обмывают последовательно двумя порциями гексана объемом 20 и 10 см$^3$ и смывы переносят в ту же делительную воронку.

Затем в делительную воронку с гексановым раствором масла помещают 30 см$^3$ ацетонитрила и интенсивно встряхивают 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой помещают в химический стакан объемом 200 см$^3$ , верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Флорасулам экстрагируют еще тремя порциями ацетонитрила объемом по 30 см$^3$ в тех же ус-

ловиях. Ацетонитрильный экстракт объединяют в химическом стакане объемом 200 $см^3$.

9.1.2. *Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей.* Ацетонитрильный экстракт, полученный по п. 9.1.1, переносят в чистую делительную воронку объемом 250 $см^3$, туда же прибавляют 50 $см^3$ гексана и интенсивно встряхивают 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой собирают через слой безводного сульфата натрия толщиной 1 см в концентратор объемом 250 $см^3$ и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Гексан отбрасывают.

9.1.3. *Метилирование.* Сухой экстракт, полученный по п. 9.1.2, растворяют в 1 см ацетонитрила. Туда же добавляют последовательно 100 мкл триэтиламина и 100 мкл йодистого метила, помещают смесь в ультразвуковую ванну на 5 с и выдерживают при температуре 22—25 °С в течение часа. По истечении этого времени смесь упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе (на стенках колбы образуются белые кристаллы).

К сухому остатку добавляют 10 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят раствор в делительную воронку. Концентратор обмывают 10 $см^3$ диэтилового эфира, переносят его в ту же делительную воронку и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний слой (диэтиловый эфир) собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Экстракцию диэтиловым эфиром повторяют еще 2 раза, используя по 10 $см^3$ растворителя. Экстракт объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

*Повторное упаривание и перерастворение образца неприемлемо, так как при этом уменьшается содержание метилированного производного флорасулама в пробе.

9.1.4. *Очистка экстракта на концентрирующих патронах Диапак С 8.*

Сухой остаток после метилирования растворяют в 1,0 см ацетонитрила, тщательно обмывая стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9,0 $см^3$ воды, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон Диапак С 8. Патрон промывают 10 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 5. Элюат отбрасывают. Флорасулам элюируют с картриджа 15 $см^3$ смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1, элюат выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2,5 $см^3$ ацетонитрила и аликвоту объемом 20 $мм^3$ вводят в хроматограф.

*9.2. Условия хроматографирования.* Хроматограф «Waters» или другой с аналогичными характеристиками с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны.

Колонка стальная Symmetry Shield RP18, 4,6 мм × 25 см, зернением 5 мкм. Предколонка стальная Symmetry C18, 3,9 мм × 2 см, зернением 5 мкм. Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода в соотношении 45 : 50. Длина волны 260 нм.

Время удерживания флорасулама – 12,1—12,5 мин. Чувствительность 0,003 ед. оптической плотности на шкалу. Объем вводимой пробы 20 мм$^3$. Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

## 10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется программное обеспечение химического анализа «Agilent Chemstation».

Альтернативная обработка результатов.

Содержание флорасулама рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{ПР} \times A \times V}{100 \times S_{СТ} \times m} \times P, \text{ где}$$

$X$ – содержание флорасулама в пробе, мг/кг;

$S_{СТ}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{ПР}$ – высота (площадь) пика образца, мм;

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

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

$m$ – масса анализируемого образца, г (см);

$P$ – содержание флорасулама в аналитическом стандарте, %.

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

$X_1$, $X_2$ – 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:**

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

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

$\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

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

*«содержание вещества в пробе менее 0,025 мг/кг»**

**- 0,025 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—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 $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

$\pm \Delta_{л,\overline{X}} (\pm \Delta_{л,\overline{X}})$ – 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:

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

$\Delta$ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

$\delta$ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, таблица 1), %.

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

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

$\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11), содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и 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:

$$|K_K| \le K \qquad (2)$$

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 двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости ($R$)

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

$X_1$, $X_2$ – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/кг;

$R$ – предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций, табл.1), %.

## 14. Разработчики

Калинин В. А., профессор, канд. с-х. наук, Довгилевич Е. В., ст. науч. сотр., канд. биол. наук, Довгилевич А. В., ст. науч. сотр., канд. хим. наук, Устименко Н. В., ст. науч. сотр., канд. биол.наук.

Приложение

**Полнота извлечения флорасулама из кукурузного масла (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)**

| Среда | Предел обнаружения, мг/кг (дм ) | Среднее значение определения, мг/кг (дм ) | Полнота определения, % | Стандартное отклонение, *SD*, % | Доверительный интервал среднего результата, *SE*, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Кукурузное масло | 0,025 | 0,021 | 84 | 2,2 | 0,96 |
| | 0,050 | 0,042 | 84 | 3,5 | 1,55 |
| | 0,100 | 0,081 | 81 | 2,9 | 1,31 |
| | 0,250 | 0,199 | 79,6 | 2,1 | 0,93 |

gost.e-ecolog.ru