

**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**

БКБ 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.

БКБ 51.21

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 31.07.09

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 1,0

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

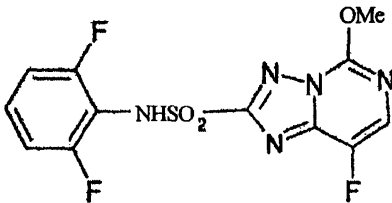
МУК 4.1.2453—09

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 1×10^5 Pa (при 25 °С).

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

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

Растворимость в воде: 84 мг/л дм^3 (рН 5,0, 20 °С); 6,36 (рН 7,0, 20 °С); 94,2 г/ дм^3 (рН 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 рКа - 4,54.

Краткая токсикологическая характеристика: флорасулам относится к мало опасным веществам по острой пероральной (ЛД₅₀ для крыс – более 6 000 мг/кг) и кожной (ЛД₅₀ для кроликов > 2 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным веществам (ЛС₅₀ 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 дв. в смеси с другими гербицидами при однократной обработке в фазу кушения 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, σ_n , %	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 поляриности.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические «ОНАУС», Е 11140	
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 600 г и пределом допустимой погрешности + 0,038 г «ACCU LAB» 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 перегнаный реактив хранят в темной посуде в холодильнике в течение 2 месяцев)	
Натрий сернистый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Триэтиламин, ГОСТ (перегоняют, и	

перегранный 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 «UNTRA»

UNIMA OLSZTYN UM-4

Воронки химические для фильтрования, стеклянные

ГОСТ 8613—75

Воронки делительные на 250 см

ГОСТ 10054—75

Испаритель ротационный Rota vapor RI 10 Buchi или ИР-1М с водяной баней

ТУ 25-11-917—74

Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 см³, 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 см³

ГОСТ 9737—70

Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 100 и 250 см

ГОСТ 10394—75

Насос диафрагменный FT. 19

фирмы KNF Neu Laborort

Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry С 18, длиной 20 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма Уотерс

Стаканы стеклянные объемом 100—500 см³

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 свежеперегранные ацетонитрил и очищенную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 дм³ помещают 450 см³ ацетонитрила и 500 см³ 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/см³.* Взвешивают 50 мг флорасулама в мерной колбе объемом 50 см³. 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 см³ 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/см³ для внесения в образцы масла.* Методом последовательного разведения ацетоном готовят растворы, содержащие по 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см³ 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 см³ помещают 1 см³ стандартного раствора флорасулама в ацетонитриле с концентрацией 10,0 мкг/см³. 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 см³ насыщенного раствора хлористого натрия, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят раствор в делительную воронку. Концентратор обмывают 10 см³ 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 см³ ацетонитрила (получают метилированный стандарт с концентрацией 1,0 мкг/см³). Далее методом последовательного разведения ацетонитрилом получают стандартные растворы с концентрацией 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/см³.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации метилированного производного флорасулама в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки с концентрацией 1,0; 0,5; 0,2 и ОД мкг/см³.

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 см³/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 см³ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 1 и 10 см³ 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/см³, отбирают 1 см³ и помещают в концентратор объемом 100 см³. Добавляют туда же 9 см³ очищенной воды, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Патрон промывают 10 см³ смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 5, элюат собирают, упаривают досуха при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см³ ацетонитрила и хроматографируют. Далее патрон промывают последовательно 4 порциями по 5 см³ 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 см³ 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 см³/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 см³, прибавляют туда же 20 см³ гексана, тщательно перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 см³. Химический стакан обмывают последовательно двумя порциями гексана объемом 20 и 10 см³ и смывы переносят в ту же делительную воронку.

Затем в делительную воронку с гексановым раствором масла помещают 30 см³ ацетонитрила и интенсивно встряхивают 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний ацетонитрильный слой помещают в химический стакан объемом 200 см³, верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Флорасулам экстрагируют еще тремя порциями ацетонитрила объемом по 30 см³ в тех же ус-

ловиях. Ацетонитрильный экстракт объединяют в химическом стакане объемом 200 см³.

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 см³, туда же прибавляют 50 см³ 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 см³ 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 см³ насыщенного раствора хлористого натрия, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят раствор в делительную воронку. Концентратор обмывают 10 см³ 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 см³ 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 см³ воды, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон Диапак С 8. Патрон промывают 10 см³ смеси ацетонитрил—вода в соотношении 1 : 5. Элюат отбрасывают. Флорасулам элюируют с картриджа 15 см³ 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 см³ ацетонитрила и аликвоту объемом 20 мм³ 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 мм³. 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:

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

X – содержание флорасулама в пробе, мг/кг;

$S_{\text{ст}}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{\text{пр}}$ – высота (площадь) пика образца, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/см³;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

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):

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2,8 \sigma_r$.

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

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

δ – 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_d должна удовлетворять условию:

$$C_d = \Delta_{\pi, \bar{X}} + \Delta_{\pi, \bar{X}'}, \text{ где}$$

$\pm \Delta_{\pi, \bar{X}} (\pm \Delta_{\pi, \bar{X}'})$ – 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:

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

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

Результат контроля процедуры K_K рассчитывают по формуле:

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

$\overline{X'}$, \overline{X} , C_δ – 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:

$$K = \sqrt{\Delta_{n,\overline{X}}^2 + \Delta_{n,\overline{X}}^2}$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию:

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

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

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

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

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

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.

**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