

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение остаточных количеств  
метобромурана 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

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

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Определение остаточных количеств  
метобромурана 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 метобромурана 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

Тираж 125 экз.

Печ. л. 1,0  
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**

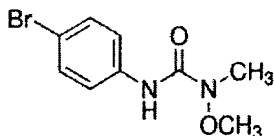
Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.198/01.00043/  
2015.

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)



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<sup>3</sup> (при 20 °С).

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

Стабильность к гидролизу: стабилен, при 20 °С: DT<sub>50</sub> = 170 дней (рН 7).

Период полураспада в почве: DT<sub>50</sub> = 34 дня.

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

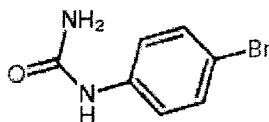
*Область применения препарата.* Предвсходовый гербицид для борьбы с широколиственными сорняками и однолетними травами, адсорбируется корнями и листьями.

*Механизм действия.* Ингибирование фотосинтеза.

#### **4-Бромфенилмочевина**

4-Бромфенилмочевина (ИЮПАК).

Основной метаболит метобромурана в почве и растениях.



C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>BrN<sub>2</sub>O

Молекулярная масса: 215.0.

Химически чистое вещество представляет собой бесцветные кристаллы.

Температура плавления: 225—227 °С.

В России для метобромурана 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), $\pm \delta$ , % ( $P = 0,95$ )	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r$ , %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R$ , %	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), $\pm \delta$ , % ( $P = 0,95$ )	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r$ , %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R$ , %	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 метобромурана, 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, $\pm$ %
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, $\pm$ %
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 метобромурана 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<sup>3</sup>

ГОСТ 23932—90

Микродозаторы одноканальные переменного объема 100—1 000 мм<sup>3</sup> и 1—5 см<sup>3</sup>

Цилиндры мерные на 50, 100, 500 см<sup>3</sup>

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 карбамагную группу в цепи С18 (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм

Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25 и 100 см<sup>3</sup>

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<sup>3</sup>

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 ( $20 \pm 5$ ) °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 ( $0,1—0,2 \text{ см}^3/\text{мин}$ ) до стабилизации нулевой линии.

### 7.2. Приготовление растворов

7.2.1. *0,005 М раствор ортофосфорной кислоты*: ( $0,5 \pm 0,01$ ) г 98 %-й ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом  $1 \text{ дм}^3$ , 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  $1,0 \text{ мг}/\text{см}^3$* : точную навеску метобромурона ( $50 \pm 0,5$ ) мг помещают в мерную колбу вместимостью  $50 \text{ см}^3$ , растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки тем же растворителем.

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

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

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

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

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

7.3.1.6. *Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см<sup>3</sup>*: в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 5 см<sup>3</sup> раствора метобромурана № 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<sup>3</sup>*: точную навеску 4-бромфенилмочевины (50 ± 0,5) мг помещают в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>*: в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 0,1 см<sup>3</sup> основного раствора 4-бромфенилмочевины и доводят до метки подвижной фазой № 2.

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

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

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

7.3.2.6. *Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см<sup>3</sup>*: в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> помещают 5 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> 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:

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

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

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

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

#### 7.5. Подготовка патрона для твердофазной экстракции

Патрон промывают последовательно 3 см<sup>3</sup> этилацетата и 3 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> отбирают по 1 см<sup>3</sup> стандартных растворов метобромурона и 4-бромфенилмочевины в ацетонитриле с концентрацией 1 мкг/см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> гексана и переносят на подготовленный патрон (п. 7.5). Колбу ополаскивают 1 см<sup>3</sup> гексана и также наносят на патрон. Последовательно промывают патрон 10 см<sup>3</sup> гексана и 3 см<sup>3</sup> смеси № 1, элюат отбрасывают. Метобромурон элюируют 6 см<sup>3</sup> смеси № 2 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 см<sup>3</sup>, упаривают досуха, растворяют в 1 см<sup>3</sup> подвижной фазы № 1 и анализируют по п. 9.3. Далее промывают патрон 5 см<sup>3</sup> смеси № 3, элюат отбрасывают. 4-Бромфенилмочевину элюируют 8 см<sup>3</sup> этилацетата со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 см<sup>3</sup>, упаривают досуха, растворяют в 1 см<sup>3</sup> 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 смыывания 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 измельченных семян или бобов с помощью лабораторного пресса.

## 9. Проведение определения

### 9.1. Определение метобромурана 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<sup>3</sup>, добавляют 30 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> ацетонитрила и экстракцию повторяют. От объединенных органических экстрактов отбирают аликвоту, соответствующую 1 г пробы, переносят в круглодонную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> гексана и количественно переносят на подготовленный патрон (п. 7.5). Колбу ополаскивают 1 см<sup>3</sup> гексана и также наносят на патрон. Патрон последовательно промывают 10 см<sup>3</sup> гексана и 3 см<sup>3</sup> смеси № 1, элюат отбрасывают. Метобромуран элюируют 5 см<sup>3</sup> смеси № 2. Элюат собирают в круглодонную колбу емкостью 25 см<sup>3</sup> и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см<sup>3</sup> подвижной фазы № 1 и анализируют по п. 9.3.

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

### 9.3. Условия хроматографирования метобромурана

Ультразффективный 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 C18 (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<sup>3</sup>/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора – 245 нм. Объем вводимой пробы – 10 мм<sup>3</sup>. Время удерживания метобромурана – (4,1 ± 0,1) мин.

#### 9.4. Условия хроматографирования 4-бромфенилмочевины

Ультразрффефективный 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<sup>3</sup>/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора – 245 нм. Объем вводимой пробы – 10 мм<sup>3</sup>. Время удерживания 4-бромфенилмочевины – (9,4 ± 0,1) мин.

### 10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание метабромурана 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<sup>2</sup> (AU);

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

$V$  – объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, см<sup>3</sup>;

$P$  – 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<sup>3</sup>, 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):

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

$X_1, X_2$  – 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:

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

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

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

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

$\delta$  – 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 метобромурана 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  $C_d$  должна удовлетворять условию:

$$C_d = \Delta_{x,x} + \Delta_{x,x'}, \text{ где}$$



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

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

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

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

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

Результат контроля процедуры  $K_K$  рассчитывают по формуле:

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

$X'$ ,  $X$ ,  $C_{\delta}$  – 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:

$$K = \sqrt{\Delta_{\Delta, X'}^2 + \Delta_{\Delta, X}^2} \quad (2)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_K| \leq K, \quad (3)$$

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 ( $R$ ):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \leq R, \text{ где} \quad (4)$$

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

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