**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств дифлубензурона в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3512—17**

Издание официальное

**Москва • 2018**

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 дифлубензурона в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3512—17**

ББК 51.23
О-60

О-60 **Определение** остаточных количеств дифлубензурона в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—15 с.

ISBN 978–5–7508–1670–5

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений» (И. А. Цибульская, А. О. Берестецкий).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 24 ноября 2017 г. № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 29 декабря 2017 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.23**

ISBN 978–5–7508–1670–5

**© Роспотребнадзор, 2018**

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
29 декабря 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств дифлубензурона в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.3512—17

Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.238/01.00043/2016.

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации дифлубензурона в ягодах и соке винограда в диапазоне концентраций 0,01—0,1 мг/кг.

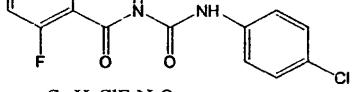
Методические указания носят рекомендательный характер.

**Дифлубензурон**

1-(4-хлорфенил)-3-(2,6-дифторбензоил)мочевина (IUPAC).

N-{[(4-хлорфенил)амино]карбонил}-2,6-дифторбензамид (C.A.).

Структурная формула:




Брутто формула: $C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$.

Молекулярная масса: 310,7.

Бесцветное кристаллическое вещество (технический – кристаллы от белых до желтых).

Температура плавления: 228 °С (технический: 210–230 °С).

Давление паров при 25 °С: $1,2 \times 10^{-4}$ МПа.

Коэффициент распределения н-октанол/вода: $K_{ow}$ log P = 3,89.

Растворимость (г/л) при 20 °С: н-гексан – 0,063; толуол – 0,29; дихлорметан – 1,8; метанол – 1,1; вода – 0,08 мг/л (при pH 7 и 25 °С).

Вещество стабильно в кислых средах (20 °С, pH 5–7, $DT_{50}$ > 150 дней), разлагается в щелочных растворах (при pH 9 $DT_{50}$ 42 дня).

*Краткая токсикологическая характеристика.* Острая пероральная токсичность ($LD_{50}$) для мышей и крыс – более 4 640 мг/кг; острая дермальная токсичность ($LD_{50}$) для кроликов – более 2 000 мг/кг, для крыс – более 10 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность ($LC_{50}$) для крыс – более 2,88 мг/л. Токсичен для пчел. $СК_{50}$ для рыб 130—150 мг/л при экспозиции 96 ч.

Мутагенный и онкогенный эффекты при использовании препарата не наблюдались.

Гигиенические нормативы для дифлубензурона в России:

МДУ для яблок – 0,1 мг/кг.

*Область применения препарата.* Несистемный регулятор роста насекомых с контактным и кишечным действием. Используется для уничтожения широкого диапазона насекомых-вредителей, питающихся листьями лесных и плодовых деревьев, а также плодами. Эффективен против яблонной плодожорки, листоверток и др.

## 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 для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

**Метрологические параметры**

| Объект анализа | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг, мг/кг | Показатель точности*) (границы относительной погрешности ($P = 0,95$), ±δ, % | Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r$, % | Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R$, % | Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между результатами параллельных определений), $r$, % | Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между результатами измерений, полученных в разных лабораториях), $R$, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ягоды | от 0,01 до 0,1 вкл. | 24 | 9 | 12 | 25 | 34 |
| Сок | от 0,01 до 0,1 вкл. | 24 | 9 | 12 | 25 | 34 |

*) Соответствует расширенной неопределенности $U_{отн.}$ при коэффициенте охвата $k = 2$

Таблица 2

**Полнота извлечения дифлубензурона, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для $n = 20$, $P = 0,95$**

| Анализируемый объект | Предел обнаружения, мг/кг | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм$^3$) | Полнота извлечения, % | Стандартное отклонение, S | Доверительный интервал среднего результата, ± % |
|---|---|---|---|---|---|
| Ягоды | 0,01 | 0,01—0,1 | 88,6 | 4,5 | 2,1 |
| Сок | 0,01 | 0,01—0,1 | 92,3 | 4,1 | 1,8 |

## 2. Метод измерений

Методика основана на определении дифлубензурона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором после его извлечения из образцов ацетонитрилом и очистке экстрактов на патронах для твердофазной экстракции (ТФЭ).

Идентификация дифлубензурона 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 ультрафиолетовым детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки | |
| Весы аналитические с пределом взвешивания до 210 г и пределом допустимой погрешности 0,2 мг | ГОСТ 24104—01 |
| Весы технические с пределом взвешивания до 400 г и допустимой погрешностью 0,1 г | ГОСТ 24104—01 |
| Колбы мерные на 10, 100 и 1 000 см$^3$ | ГОСТ 23932—90 |
| Микродозаторы одноканальные переменного объема от 200 до 1 000 мм$^3$ и от 1 до 5 см$^3$ | |
| Цилиндры мерные на 50 и 100 см$^3$ | ГОСТ 23932—90 |

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

### *3.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Ацетонитрил, хч | ТУ 6-09-3534—87 |
| Вода бидистиллированная, деионизированная | ГОСТ Р 52501—05 |
| Дифлубензурон, аналитический стандарт 99,9 % | |
| Диэтиловый эфир, ч | ГОСТ 84-2006—88 |
| н-Гексан, хч | ТУ 2631-003-05807999—98 |
| Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил–вода (60 : 40, по объему) | |
| Элюент № 1: смесь вода–ацетонитрил (70 : 30, по объему) | |
| Элюент № 2: смесь гексан–диэтиловый эфир (80 : 20, по объему) | |
| Элюент № 3: смесь гексан–диэтиловый эфир (55 : 45, по объему) | |
| Элюент № 4: смесь вода–ацетонитрил (95 : 5, 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 алкильной цепью С18, модифицированной монофункциональной полярной группой, (50 × 2,1) мм, 1,7 мкм | |
| Аппарат для встряхивания проб | ТУ 64-1-1081—73 |
| Вакуумный водоструйный насос | ГОСТ 10696—75 |
| Воронки химические конусные | ГОСТ 25336—82 |
| Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 50 и 100 $см^3$ | ГОСТ 9737—93 |
| Колбы плоскодонные конические вместимостью 100 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Патроны для ТФЭ с привитыми гексадецильными группами, 0,4 г | |
| Патроны для ТФЭ на основе силикагеля с постоянной активностью, 0,4 г | |
| Пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками объемом 50 $см^3$ | |
| Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар | |

Ультразвуковая ванна с рабочей частотой 35 кГц
Центрифуга с максимальной рабочей
частотой вращения 4 000 об./мин

**Примечание.** Допускается использование вспомогательных устройств и материалов 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—15.

*4.3.* При работе с газами, находящимися в баллонах под давлением до 15 МПа (150 кгс/см$^2$), необходимо соблюдать Федеральные нормы и правила в области промышленной безопасности «Правила промышленной безопасности опасных производственных объектов, на которых используется оборудование, работающее под избыточным давлением» (утв. Приказом Ростехнадзора от 25.03.2014 № 116). Запрещается открывать вентиль баллона, не установив на нем понижающий редуктор.

## 5. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы на жидкостном хроматографе, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

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

### *7.2. Приготовление растворов*

7.2.1. *Для приготовления элюента № 1* смешивают в мерной колбе на 100 $см^3$ 30 $см^3$ ацетонитрила и 70 $см^3$ бидистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

7.2.2. *Для приготовления элюента № 2* смешивают в мерной колбе на 100 $см^3$ 80 $см^3$ гексана и 20 $см^3$ диэтилового эфира, используя мерные цилиндры.

7.2.3. *Для приготовления элюента № 3* смешивают в мерной колбе на 100 $см^3$ 55 $см^3$ гексана и 45 $см^3$ диэтилового эфира, используя мерные цилиндры.

7.2.4. *Для приготовления элюента № 4* смешивают в мерной колбе на 100 $см^3$ 5 $см^3$ ацетонитрила и 95 $см^3$ бидистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

7.2.5. *Для приготовления подвижной фазы* в мерную колбу на 1 $дм^3$ вносят 600 $см^3$ ацетонитрила и доводят водой объем раствора до метки, встряхивая в течение 2 мин.

### *7.3. Приготовление основного и градуировочных растворов*

7.3.1. *Основной раствор с концентрацией 0,5 мг/см³*: точную навеску дифлубензурона (50 ± 0,5 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

Градуировочные растворы с концентрациями дифлубензурона 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрил–вода в соотношении 60 : 40).

7.3.2. *Раствор № 1 с концентрацией 1,0 мкг/см³*: в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,2 $см^3$ основного раствора и доводят до метки подвижной фазой.

7.3.3. *Раствор № 2 с концентрацией 0,5 мкг/см³*: в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 5,0 $см^3$ раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

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

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

Основной раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

При изучении полноты извлечения дифлубензурона в ягодах и соке винограда используют ацетонитрильные растворы вещества, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

### *7.4. Построение градуировочного графика*

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация дифлубензурона 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 дифлубензурона в градуировочном растворе.

Методом наименьших квадратов рассчитывают градуировочный коэффициент ($K$) в уравнении линейной регрессии:

$$C = K \cdot S, \text{ где}$$

$S$ – 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 дифлубензурона в градуировочном растворе;

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации дифлубензурона в градуировочном растворе;

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

### *7.5. Проверка хроматографического поведения дифлубензурона на патроне на основе силикагеля с постоянной активностью*

Патрон кондиционируют последовательно промывая элюентом № 3 и гексаном (по 6 см$^3$). В испарительную колбу емкостью 50 см$^3$ отбирают 0,1 см$^3$ раствора дифлубензурона в ацетонитриле концентрации 10 мкг/см$^3$, добавляют 3 см$^3$ элюента № 2 и помещают колбу в ультразвуковую ванну на 2 мин. Раствор вносят в кондиционированный патрон. Колбу обмывают 3 см$^3$ элюента № 2 и также вносят в патрон. Затем патрон промывают 6 см$^3$ элюента № 3. Отбирают фракции по 3 см$^3$ каждая, упаривают, сухой остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ в ультразвуковой ванне (10 с) и анализируют на содержание дифлубензурона по п. 9.3.1.

Фракции, содержащие дифлубензурон, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 9.3.1. Рассчитывают содержание дифлубензурона в элюате, определяя полноту вымывания вещества и необходимый для очистки экстракта объем элюента.

### *7.6. Проверка хроматографического поведения дифлубензурона на патроне с гидрофобным сорбентом с привитыми гексадецильными группами*

Патрон с гидрофобным сорбентом с привитыми гексадецильными группами кондиционируют, последовательно промывая ацетонитрилом и водой (по 6 см$^3$).

В круглодонную колбу емкостью 50 см$^3$ вносят 10 см$^3$ воды, добавляют 0,1 см$^3$ раствора дифлубензурона в ацетонитриле концентрации 10 мкг/см$^3$, перемешивают и полученную смесь вносят в кондиционированный патрон. Патрон промывают 6 см$^3$ элюента № 4 и 6 см$^3$ ацетонитрила. Отбирают фракции по 3 см$^3$ каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ в ультразвуковой ванне (10 с) и анализируют на содержание дифлубензурона по п. 9.3.2. Фракции, содержащие дифлубензурон, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 см$^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 9.3.2. Рассчитывают содержание дифлубензурона в элюате, определяя полноту вымывания вещества и необходимый для очистки экстракта объем элюента.

**Примечание:** профиль вымывания дифлубензурона с патрона может меняться при использовании новой партии патронов и растворителей.

### *7.7. Подготовка приборов и средств измерения*

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения проводится в соответствии с требованиями технической документации.

## 8. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79), а также в соответствии с ГОСТ 32786—14 «Виноград столовый свежий. Технические условия». Пробы ягод винограда хранят до анализа в герметично закрытом двойном полиэтиленовом пакете в морозильной камере при температуре не выше –18 °С в течение 6 месяцев. Пробы виноградного сока хранят в холодильнике при температуре 0—4 °С в стеклянной таре с притертой пробкой в течение недели.

## 9. Проведение определения

### *9.1. Определение дифлубензурона в ягодах винограда*

9.1.1. *Экстракция.* Для экстракции дифлубензурона навеску ягод массой (10 ± 0,1) г помещают в 50-см$^3$ пробирку, добавляют 30 см$^3$ ацетонитрила, измельчают, перемешивают 1—2 мин вручную либо на встряхивателе, центрифугируют 10 мин при 4 000 об./мин, супернатант декантируют в мерный цилиндр на 100 см$^3$. Экстракцию повторяют два раза. Объем объединенных растворов доводят ацетонитрилом до 100 см$^3$. Для последующего анализа отбирают 20 см$^3$ раствора (или аликвоту 20 % экстракта) и переносят в испарительную колбу объемом 50 см$^3$. Растворитель упаривают из полученного раствора на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пунктам 9.1.2 и 9.1.3.

9.1.2. *Очистка на патроне с привитыми гексадецильными группами.* Экстракт растворяют в 2 см$^3$ ацетонитрила и добавляют 8 см$^3$ воды. Кондиционируют патрон как описано в п. 7.6 и вводят в него экстракт (скорость потока не более 2 мл/мин). Обмывают колбу с остатком экстракта элюентом № 1 (12 см$^3$), промывают патрон этим раствором, элюат отбрасывают. Патрон подсушивают током воздуха 1 мин. Аналит смывают в испарительную колбу объемом 50 см$^3$ ацетонитрилом (объем 3 см$^3$). Растворитель отгоняют из полученного раствора на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее очистку экстракта проводят по п. 9.1.3.

9.1.3. *Очистка на патроне с гидрофильным сорбентом с постоянной активностью.* Патрон кондиционируют по п. 7.5. Экстракт, очищенный по п. 9.1.2, растворяют в 2 $см^3$ элюента № 2 и вносят в кондиционированный патрон. Колбу обмывают 5 $см^3$ элюента № 2 и также вносят в патрон. Элюат отбрасывают. Аналит смывают элюентом № 3 (3 $см^3$) в испарительную колбу объемом 50 $см^3$. Растворитель упаривают из полученного раствора на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Для проведения анализа растворяют сухой остаток в 1,2 $см^3$ ацетонитрила в ультразвуковой ванне (10 с) и добавляют 0,8 $см^3$ воды. После перемешивания в ультразвуковой ванне (10 с) 10 $мм^3$ раствора вводят в хроматограф и проводят анализ по п. 9.3.

### *9.2. Определение дифлубензурона в виноградном соке*

Патрон с привитыми гексадецильными группами кондиционируют как описано в п. 7.6 и вносят в него 2 $см^3$ сока (скорость вытекания раствора с патрона должна быть не более 2 $см^3$/мин). Промывают колбу с остатком сока и картридж 6 $см^3$ элюента № 4, а затем 6 $см^3$ элюента № 1. Патрон подсушивают током воздуха 1 мин. Аналит смывают в испарительную колбу объемом 50 $см^3$ ацетонитрилом (объем 3 $см^3$). Растворитель упаривают из полученного раствора на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Для проведения анализа растворяют сухой остаток в 1,2 $см^3$ ацетонитрила в УЗ-ванне (10 с) и добавляют 0,8 $см^3$ воды. После перемешивания в УЗ-ванне (10 с) 10 $мм^3$ раствора вводят в хроматограф и проводят анализ по п. 9.3.

### *9.3. Условия хроматографирования*

Ультраэффективный жидкостной хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитой алкильной цепью С18, модифицированной монофункциональной полярной группой, (50 × 2,1) мм, 1,7 мкм. Температура колонки (30 ± 1) °С. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила и воды в соотношении 60 : 40 (по объему). Скорость потока элюента: 0,25 $см^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 260 нм. Объем вводимой пробы 10 $мм^3$. Время удерживания дифлубензурона (1,50 ± 0,07) мин.

## 10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки, содержание дифлубензурона в пробе ($X$, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot K \cdot V}{P} \cdot \frac{100}{f}, \text{ где}$$

$S_x$ – площадь пика дифлубензурона на хроматограмме испытуемого образца, мм$^2$ (AU);

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

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

$P$ – навеска анализируемого образца, г;

$f$ – полнота извлечения дифлубензурона, приведенная в табл. 2, %.

Содержание остаточных количеств дифлубензурона в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2 параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор дифлубензурона 1 мкг/см$^3$ разбавляют подвижной фазой.

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает придела повторяемости:

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

$X_1$, $X_2$ – 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:

$(\bar{X} \pm \Delta)$, мг/кг при вероятности $P = 0{,}95$, 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 0,01 мг/кг*, где * 0,01 мг/кг – предел обнаружения дифлубензурона в ягодах винограда).

## 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 внутри-лабораторный 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:

$$\Delta_л = \pm\, 0{,}84\ \Delta$$

$\Delta$ – 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 $K_к$ 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:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,X'} + \Delta^2_{л,X}} \quad (1)$$

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \quad (2)$$

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 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 предела воспроизводимости ($R$):

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

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

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

**Определение остаточных количеств дифлубензурона в ягодах и соке винограда методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

**Методические указания**
**МУК 4.1.3512—17**

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 25.12.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0
Тираж 100 экз. Заказ 81

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
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел.: 8 (495) 633-86-59

gost.e-ecolog.ru