**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств дифлуфензопира в воде, почве, зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3235—14**

Издание официальное

**Москва • 2015**

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 дифлуфензопира в воде, почве, зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3235—14**

ББК 51.23
О62

О62 **Определение** остаточных количеств дифлуфензопира в воде, почве, зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—16 с.

ISBN 978—5—7508—1395—7

1. Разработаны сотрудниками ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (В. И. Долженко, И. А. Цибульская, Т. Д. Черменская, А. С. Комарова, В. В. Человечкова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 6 ноября 2014 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 22 декабря 2014 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.23**

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Н. В. Кожока
Компьютерная вёрстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 8.12.15

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0

Тираж 125 экз. Заказ 76

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, 2015**
**© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015**

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
22 декабря 2014 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Определение остаточных количеств дифлуфензопира в воде, почве, зеленой массе, зерне и масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.3235—14

Свидетельство о метрологической аттестации № 01.5.04.183/01.00043/2014.

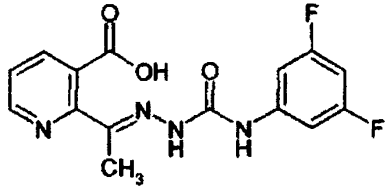
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации дифлуфензопира в диапазоне концентраций в воде 0,001—0,01 мг/дм$^3$, в почве, зерне и масле кукурузы 0,01—0,1 мг/кг, зеленой массе 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Дифлуфензопир

2-{(*EZ*)-1-[4-(3,5-difluorophenyl)semicarbazono]ethyl}nicotinic acid (ИЮПАК).

Структурная формула:




Брутто формула: $C_{15}H_{12}F_2N_4O_3$.

Молекулярная масса: 334,28.

Химически чистое вещество представляет собой белое кристаллическое вещество.

Температура плавления: 135 °С.

Давление пара при 25 °С: 0,01 МПа.

Растворимость в воде: 5 850 мг/дм$^3$ (при 20 °С).

Константа диссоциации (pKa) при 25°С: 3,18 (слабая кислота).

Стабильность к гидролизу при 20 °С: $DT_{50}$ = 13 дней (pH 5), 24 дня (pH 7), 26 дней (pH 9). Период полураспада в почве: $DT_{50}$ = 14 дней.

*Краткая токсикологическая характеристика.* Острая пероральная токсичность $LD_{50}$ для млекопитающих более 5 000 мг/кг, острая дермальная токсичность $LD_{50}$ для млекопитающих превышает 5 000 мг/кг. Оказывает раздражающее действие на слизистую глаз. Умеренно токсичен для пчел.

*Область применения препарата*: системный гербицид для борьбы с широким спектром сорняков в послевсходовый период.

*Механизм действия*: ингибирование транспорта ауксина.

Гигиенические нормативы для дифлуфензопира в России 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, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

**Метрологические параметры**

| Объект анализа | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/дм$^3$) | Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) $\sigma_r$, % | Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{R_л}$, % | Показатель воспроизводимости, $\sigma_R$, % | Показатель точности* (границы относительной погрешности), ± δ, % |
|---|---|---|---|---|---|
| Вода | 0,001—0,01 | 7 | 8 | 12 | 24 |
| Почва | 0,01—0,1 | 8 | 9 | 11 | 22 |
| Зерно | 0,01—0,1 | 8 | 9 | 11 | 22 |
| Масло | 0,01—0,1 | 8 | 9 | 11 | 22 |
| Зеленая масса | 0,05—0,5 | 7 | 9 | 12 | 23 |

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

Таблица 2

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

| Анализируемый объект | Предел обнаружения, мг/кг ($мг/дм^3$) | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг ($мг/дм^3$) | Полнота извлечения, % | Стандартное отклонение, $S$ | Доверительный интервал среднего результата, ± % |
|---|---|---|---|---|---|
| Вода | 0,001 | 0,001—0,01 | 83,8 | 5,14 | 7,21 |
| Почва | 0,01 | 0,01—0,1 | 82,7 | 2,35 | 3,30 |
| Зерно | 0,01 | 0,01—0,1 | 79,8 | 1,61 | 2,25 |
| Масло | 0,01 | 0,01—0,1 | 83,6 | 3,18 | 4,45 |
| Зеленая масса | 0,05 | 0,05—0,5 | 83,3 | 4,53 | 6,87 |

## 2. Метод измерений

Методика основана на определении дифлуфензопира методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового (УФ) детектора после его концентрирования из образцов воды на патроне с гидрофобным сорбентом с привитыми гексадецильными группами и извлечения из образцов почвы, зеленой массы, зерна и масла кукурузы щелочным водным ацетоном с последующей очисткой в системе несмешивающихся растворителей и на патронах для твердофазной экстракции.

Идентификация дифлуфензопира 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 | номер в Госреестре средств измерений 42816-09 |
| 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 250 $см^3$ | 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*

| | |
|---|---|
| Ацетон, осч | ТУ 2633-032-78119972—11 |
| Ацетонитрил для ВЭЖХ | ТУ 2634-002-04715285—12 |
| Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная. деионизованная) | ГОСТ Р 52501—05 |
| Дифлуфензопир с содержанием основного вещества 97,6 % | |
| Кислота ортофосфорная, хч | ГОСТ 6552—80 |
| Кислота соляная, хч | ГОСТ 3118—77 |
| Кислота трифторуксусная, хч, 99 % | |
| Метанол, хч | ГОСТ 6995—77 |
| Метилен хлористый, хч | ТУ 2631-019-44493179—98 |
| Натрий серно-кислый безводный, хч | ГОСТ 4166—76 |
| Натрий углекислый кислый, хч | ГОСТ 4201—79 |
| *н*-Гексан, хч | ТУ 2631-003-05807999—98 |
| Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 30 : 70 | |
| Смесь № 1: этилацетат–метанол в соотношении 9 : 1 по объему | |
| Смесь № 2: этилацетат–метанол в соотношении 2 : 1 по объему | |
| Смесь № 3: трифторуксусная кислота–вода в соотношении 1 : 199 по объему. | |
| Этилацетат, хч | ГОСТ 22300—76 |

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

### *3.3. Вспомогательные устройства и материалы*

| | |
|---|---|
| Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитой фазой, включающей гидрофильную карбаматную группу в цепи С18, (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм | |

| | |
|---|---|
| Вакуумный манипулятор для работы с патронами для твердофазной экстракции | |
| Воронки делительные вместимостью 250 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 25, 100 $см^3$ | ГОСТ 9737—93 |
| Патроны для твердофазной экстракции: № 1 – заполненные гидрофильным слабокислотным сорбентом на основе силикагеля и № 2 – гидрофобным сорбентом с привитыми гексадецильными группами, по 0,4 г | ТУ 4215-002-0545-931—94 |
| Установка для отдувки растворителей током азота | |
| Устройство перемешивающее (50—200 колебаний в минуту) | ТУ4389-007-44330709—11 |

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

## 6. Условия измерений

При выполнении измерений выполняют следующие условия:

– процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %;

– выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

## 7. Подготовка к определению

### *7.1. Кондиционирование колонки*

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

### *7.2. Кондиционирование патрона № 1 с гидрофильным слабокислотным сорбентом с постоянной активностью*

Патрон промывают 2 $см^3$ смеси № 2, затем 3 $см^3$ этилацетата.

### *7.3. Кондиционирование патрона № 2 с гидрофобным сорбентом с привитыми гексадецильными группами*

Патрон последовательно промывают 2 $см^3$ этилацетата, 2 $см^3$ метанола, 3 $см^3$ смеси № 3.

### *7.4. Приготовление растворов*

*7.4.1. 0,005 М раствор ортофосфорной кислоты*: (0,5 ± 0,01) г 98 % ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

*7.4.2. Для приготовления подвижной фазы* смешивают ацетонитрил с 0,005 М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 30 : 70 по объёму, используя мерные цилиндры.

*7.4.3. 0,1 N раствор соляной кислоты:* 1 $см^3$ концентрированной соляной кислоты помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

*7.4.4. 0,5 % раствор натрия углекислого кислого:* 0,5 г натрия углекислого кислого помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде и доводят объем до метки.

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

*7.5.1. Основной раствор с концентрацией 0,5 мг/$см^3$:* точную навеску дифлуфензопира (50 ± 0,5 мг) помещают в мерную колбу вмести-

мостью 100 см$^3$, растворяют в метаноле и доводят объем до метки метанолом.

*7.5.2. Приготовление градуировочных растворов*

Градуировочные растворы с концентрациями дифлуфензопира 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 и 1,0 мкг/см$^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрила и 0,005 М ортофосфорной кислоты в соотношении 30 : 70).

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

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

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

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

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

Основной раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 5 дней, градуировочные растворы использовать в день приготовления.

При изучении полноты определения дифлуфензопира используют ацетоновые растворы вещества, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетоном.

### *7.6. Построение градуировочного графика*

Для установления градуировочной характеристики (площадь пика – концентрация дифлуфензопира 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 дифлуфензопира в градуировочном растворе.

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

$$C = KS, \text{ где}$$

$S$ – 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 дифлуфензопира в градуировочном растворе,

$C_к$ – результат контрольного измерения массовой концентрации дифлуфензопира в градуировочном растворе,

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

### *7.7. Проверка хроматографического поведения дифлуфензопира на патроне № 1*

В круглодонную колбу емкостью 10 см$^3$ отбирают 1 см$^3$ стандартного раствора дифлуфензопира с концентрацией 1 мкг/см$^3$. Отдувают растворитель током азота. Остаток растворяют в 1 см$^3$ этилацетата и переносят на подготовленный патрон (п. 7.2.). Колбу обмывают 1 см$^3$ этилацетата и смыв тоже переносят на патрон. Промывают патрон 10 см$^3$ смеси № 1, элюат отбрасывают. Затем элюируют дифлуфензопир смесью № 2 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 2 см$^3$, упаривают досуха, растворяют в 1 см$^3$ подвижной фазы и анализируют по п. 9.6.

Фракции, содержащие дифлуфензопир, объединяют и вновь анализируют.

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

### *7.8. Проверка хроматографического поведения дифлуфензопира на патроне № 2*

В круглодонную колбу емкостью 10 см$^3$ отбирают 1 см$^3$ стандартного раствора дифлуфензопира с концентрацией 1 мкг/см$^3$. Отдувают растворитель током азота. Остаток растворяют в 10 см$^3$ смеси № 3 и пе-

реносят на подготовленный патрон (п. 7.3). Колбу обмывают 5 $см^3$ смеси № 3 и смыв тоже переносят на патрон. Патрон просушивают в течение 2 мин, затем элюируют дифлуфензопир порциями этилацетата по 2 $см^3$ со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции, упаривают досуха, растворяют в 1 $см^3$ подвижной фазы и анализируют по п. 9.6.

Фракции, содержащие дифлуфензопир, объединяют и вновь анализируют.

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

**Примечание.** Проверку хроматографического поведения дифлуфензопира следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии патронов и растворителей.

## 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 с ГОСТ Р 51592—2000 «Вода. Общие требования к отбору проб»; ГОСТ 28168—89 «Почвы. Отбор проб»; ГОСТ 13634—90 «Кукуруза. Требования при заготовках и поставках» и ГОСТ 8808—91 «Масло кукурузное. ТУ».

Зерно кукурузы хранят в полотняных мешочках при комнатной температуре. Для исследовательских целей допускается получение масла в лаборатории из проб измельчённого зерна методом экстракции органическим растворителем при температуре не выше 40 °С. Пробы масла хранят при 4—6 °С в закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре не более 30 суток.

Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Перед анализом сухую почву доводят до стандартной влажности, просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

Зеленую массу для хранения помещают в герметичной полиэтиленовой упаковке в морозильную камеру с температурой –18 °С.

## 9. Проведение определения

### *9.1. Экстракция дифлуфензопира из воды*

К 50 см$^3$ воды добавляют 0,25 см$^3$ трифторуксусной кислоты и наносят на подготовленный по п. 7.3 патрон № 2. Патрон просушивают 2 мин, затем элюируют дифлуфензопир тремя порциями этилацетата по 2 см$^3$. Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см$^3$ подвижной фазы и 10 мм$^3$ вводят в хроматограф.

### *9.2. Экстракция дифлуфензопира из почвы, зеленой массы и зерна кукурузы*

Навеску измельченной пробы (10 ± 0,1) г, зеленой массы 5 г помещают в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 см$^3$, добавляют 10 см$^3$ 0,5 %-го раствора натрия углекислого кислого и 30 см$^3$ ацетона. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют. Надосадочную жидкость декантируют в круглодонную колбу. Экстракцию повторяют 5 см$^3$ 0,5 %-го раствора натрия углекислого кислого и 15 см$^3$ ацетона. Объединенные фракции упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до водного остатка. Остаток доводят до 50 см$^3$ 0,5 %-м раствором натрия углекислого кислого, переносят в делительную воронку и очищают по п. 9.4.

### *9.3. Экстракция дифлуфензопира из масла кукурузы*

К навеске масла (10 ± 0,1) г добавляют 10 см$^3$ гексана и переносят в делительную воронку. Дифлуфензопир дважды экстрагируют порциями 0,5 %-го раствора натрия углекислого кислого по 25 см$^3$. Объединенные щелочные экстракты очищают по п. 9.4.

### *9.4. Очистка в системе несмешивающихся растворителей*

Щелочной экстракт последовательно промывают двумя порциями по 10 см$^3$ гексана и двумя порциями по 10 см$^3$ хлористого метилена. В случае плохого разделения слоев можно перенести эмульсию в центрифужную пробирку и центрифугировать в течение 5 мин при скорости 4 000 об./мин. Водный слой подкисляют 0,1 N соляной кислотой до pH = 1 и дифлуфензопир экстрагируют двумя порциями по 30 см$^3$ хлористого метилена. Метиленовые фракции собирают в круглодонную колбу, пропуская через слой безводного сульфата натрия, и растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре

бани не выше 40 °С. Сухой остаток подвергают очистке на патроне № 1 по п. 9.5.

### *9.5. Очистка на патроне № 1*

Сухой остаток, полученный по п. 9.4, растворяют в 1 см$^3$ этилацетата, наносят на предварительно кондиционированный патрон (п. 7.2), колбу ополаскивают 1 см$^3$ этилацетата и также наносят на патрон. Патрон промывают 10 см$^3$ смеси № 1, элюат отбрасывают. Дифлуфензопир элоируют 5 см$^3$ смеси № 2, элюат собирают, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, остаток растворяют в 1 см$^3$ подвижной фазы и 10 мм$^3$ вводят в хроматограф.

**Примечание.** Ввиду нестабильности аналита хранение экстрактов подготовленных проб не допускается. Пробоподготовку и анализ следует проводить в один день.

### *9.6. Условия хроматографирования*

Ультраэффективный жидкостный хроматограф с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Аналитическая колонка, заполненная сорбентом с привитой фазой, включающей гидрофильную карбаматную группу в цепи С18, (100 × 2,1) мм, 1,7 мкм. Температура колонки (30 ± 1) °С. Подвижная фаза: ацетонитрил и 0,005 М ортофосфорная кислота в соотношении 30 : 70 (от 0 до 1 мин); далее градиент от 30 : 70 до 70 : 30 (от 1 до 8 мин). Скорость потока элюента: 0,2 см$^3$/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 287 нм. Объем вводимой пробы 10 мм$^3$. Время удерживания дифлуфензопира (5,1 ± 0,1) мин.

## 10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки. Содержание дифлуфензопира 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 дифлуфензопира 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 дифлуфензопира, приведенная в табл. 2, %.

Содержание остаточных количеств дифлуфензопира в образце вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

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

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

$r$ – значение предела повторяемости ($r = 2{,}8\sigma_r$).

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

## 12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

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

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

$\Delta$ – 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 меньше 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 дифлуфензопира в почве).

## 13. Контроль качества результатов измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-6—02 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

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

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

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

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

$\Delta$ – 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:

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

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

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|K_к| \le K, \qquad (2)$$

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 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 ($R$):

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

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

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

gost.e-ecolog.ru