

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

**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

Тираж 125 экз.

Печ. л. 1,0

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.

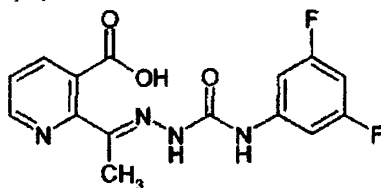
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации дифлуфензопира в диапазоне концентраций в воде 0,001—0,01 мг/дм³, в почве, зерне и масле кукурузы 0,01—0,1 мг/кг, зеленой массе 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

Дифлуфензопир

2-{(E_Z)-1-[4-(3,5-дифлуорофенил)semicarbazono]ethyl} nicotinic acid
(ИЮПАК).

Структурная формула:



Брутто формула: C₁₅H₁₂F₂N₄O₃.

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/дм³ (при 20 °С).

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

Стабильность к гидролизу при 20 °С: DT₅₀ = 13 дней (рН 5), 24 дня (рН 7), 26 дней (рН 9). Период полураспада в почве: DT₅₀ = 14 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность LD₅₀ для млекопитающих более 5 000 мг/кг, острая дермальная токсичность LD₅₀ 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 среднее квадратическое отклонение повторяемости) $\sigma_{\text{т}}, \%$	Показатель внутрिलाбораторной прецизионности, $\sigma_{\text{Rл}}, \%$	Показатель воспроизводимости, $\sigma_{\text{R}}, \%$	Показатель точности* (границы относительной погрешности), $\pm \delta, \%$
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 $U_{\text{омн}}$ 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
n-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 ($0,1—0,2 \text{ см}^3/\text{мин}$) 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:* ($0,5 \pm 0,01$) 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 $0,5 \text{ мг}/\text{см}^3$:* точную навеску дифлуфензопира ($50 \pm 0,5 \text{ мг}$) помещают в мерную колбу вмести-

мостью 100 см³, 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/см³ 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/см³: в мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят 0,2 см³ основного раствора и доводят до метки подвижной фазой.

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

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

7.5.2.4. Раствор № 4 с концентрацией 0,1 мкг/см³: в мерную колбу вместимостью 10 см³ помещают 1 см³ раствора № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.5.2.5. Раствор № 5 с концентрацией 0,05 мкг/см³: в мерную колбу вместимостью 10 см³ помещают 0,5 см³ 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 мм³ 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:

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

C – аттестованное значение массовой концентрации дифлуфензопира в градуировочном растворе,

C_k – результат контрольного измерения массовой концентрации дифлуфензопира в градуировочном растворе,

$\lambda_{\text{контр.}}$ – норматив контроля градуировочного коэффициента, %.
($\lambda_{\text{контр.}} = 10\%$ 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 см³ смеси № 3 и смыв тоже переносят на патрон. Патрон просушивают в течение 2 мин, затем элюируют дифлуфензопир порциями этилацетата по 2 см³ со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции, упаривают досуха, растворяют в 1 см³ 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 измельченного 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 см³ воды добавляют 0,25 см³ трифторуксусной кислоты и наносят на подготовленный по п. 7.3 патрон № 2. Патрон просушивают 2 мин, затем элюируют дифлуфензопир тремя порциями этилацетата по 2 см³. Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 см³ подвижной фазы и 10 мм³ 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 см³, добавляют 10 см³ 0,5 %-го раствора натрия углекислого кислого и 30 см³ ацетона. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют. Надосадочную жидкость декантируют в круглодонную колбу. Экстракцию повторяют 5 см³ 0,5 %-го раствора натрия углекислого кислого и 15 см³ ацетона. Объединенные фракции упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до водного остатка. Остаток доводят до 50 см³ 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 см³ гексана и переносят в делительную воронку. Дифлуфензопир дважды экстрагируют порциями 0,5 %-го раствора натрия углекислого кислого по 25 см³. Объединенные щелочные экстракты очищают по п. 9.4.

9.4. Очистка в системе несмешивающихся растворителей

Щелочной экстракт последовательно промывают двумя порциями по 10 см³ гексана и двумя порциями по 10 см³ 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 см³ 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 см³ этилацетата, наносят на предварительно кондиционированный патрон (п. 7.2), колбу ополаскивают 1 см³ этилацетата и также наносят на патрон. Патрон промывают 10 см³ смеси № 1, элюат отбрасывают. Дифлуфензопир элюируют 5 см³ смеси № 2, элюат собирают, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, остаток растворяют в 1 см³ подвижной фазы и 10 мм³ 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

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 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 см³/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 287 нм. Объем вводимой пробы 10 мм³. 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, мм² (AU);

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

V – объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, см³;

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/см³, 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:

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг;

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

δ – 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 «меньше 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_δ должна удовлетворять условию:

$$C_\delta = \Delta_{n,X} + \Delta_{n,X'}, \text{ где}$$

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

δ – 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_δ – 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:

$$K = \sqrt{\Delta_{n,X'}^2 + \Delta_{n,X}^2} \quad (1)$$

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 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):

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

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

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