

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания  
МУК 4.1.3512—17

Издание официальное

Москва • 2018

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

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Определение остаточных количеств  
дифлубензурана 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 дифлубензурана 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 дифлубензурана 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 дифлубензурана в ягодах и соке винограда в диапазоне концентраций 0,01—0,1 мг/кг.

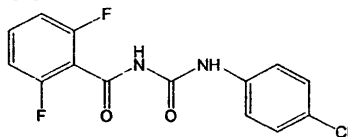
Методические указания носят рекомендательный характер.

#### Дифлубензуран

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

N-[[[(4-хлорфенил)амино]карбонил]-2,6-дифторбензамид (С.А.).

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 рН 7 и 25 °С).

Вещество стабильно в кислых средах (20 °С, pH 5–7, DT<sub>50</sub> > 150 дней), разлагается в щелочных растворах (при pH 9 DT<sub>50</sub> 42 дня).

*Краткая токсикологическая характеристика.* Острая пероральная токсичность (LD<sub>50</sub>) для мышей и крыс – более 4 640 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD<sub>50</sub>) для кроликов – более 2 000 мг/кг, для крыс – более 10 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC<sub>50</sub>) для крыс – более 2,88 мг/л. Токсичен для пчел. СК<sub>50</sub> для рыб 130—150 мг/л при экспозиции 96 ч.

Мутагенный и онкогенный эффекты при использовании препарата не наблюдались.

Гигиенические нормативы для дифлубензурана 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 плодовой гнили, 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), σ <sub>r</sub> , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ <sub>R</sub> , %	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<sub>отн.</sub> при коэффициенте охвата k = 2

Таблица 2

Полнота извлечения дифлубензурана, 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 <sup>3</sup> )	Полнота извлечения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, $\pm$ %
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 дифлубензурана методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором после его извлечения из образцов ацетонитрилом и очистке экстрактов на патронах для твердофазной экстракции (ТФЭ).

Идентификация дифлубензурана 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<sup>3</sup>

ГОСТ 23932—90

Микродозаторы одноканальные переменного объема от 200 до 1 000 мм<sup>3</sup> и от 1 до 5 см<sup>3</sup>

Цилиндры мерные на 50 и 100 см<sup>3</sup>

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 <sup>3</sup>	ГОСТ 9737—93
Колбы плоскодонные конические вместимостью 100 см <sup>3</sup>	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 <sup>3</sup>	
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<sup>2</sup>), 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<sup>3</sup>/мин) до стабилизации нулевой линии.

### **7.2. Приготовление растворов**

7.2.1. Для приготовления элюента № 1 смешивают в мерной колбе на 100 см<sup>3</sup> 30 см<sup>3</sup> ацетонитрила и 70 см<sup>3</sup> бидистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

7.2.2. Для приготовления элюента № 2 смешивают в мерной колбе на 100 см<sup>3</sup> 80 см<sup>3</sup> гексана и 20 см<sup>3</sup> диэтилового эфира, используя мерные цилиндры.

7.2.3. Для приготовления элюента № 3 смешивают в мерной колбе на 100 см<sup>3</sup> 55 см<sup>3</sup> гексана и 45 см<sup>3</sup> диэтилового эфира, используя мерные цилиндры.

7.2.4. Для приготовления элюента № 4 смешивают в мерной колбе на 100 см<sup>3</sup> 5 см<sup>3</sup> ацетонитрила и 95 см<sup>3</sup> бидистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

7.2.5. Для приготовления подвижной фазы в мерную колбу на 1 дм<sup>3</sup> вносят 600 см<sup>3</sup> 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/см<sup>3</sup>: точную навеску дифлубензурана (50 ± 0,5 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом.

Градуировочные растворы с концентрациями дифлубензурана 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг/см<sup>3</sup> 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/см<sup>3</sup>: в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 0,2 см<sup>3</sup> основного раствора и доводят до метки подвижной фазой.

7.3.3. 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 № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.4. *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 № 1 и доводят объем до метки подвижной фазой.

7.3.5. *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 № 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 дифлубензурана 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 дифлубензурана 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 дифлубензурана 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:

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

$C$  – аттестованное значение массовой концентрации дифлубензурана в градуировочном растворе;

$C_k$  – результат контрольного измерения массовой концентрации дифлубензурана в градуировочном растворе;

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

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

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

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

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

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

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

**Примечание:** профиль вымывания дифлубензурана 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  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 6 месяцев. Пробы виноградного сока хранят в холодильнике при температуре  $0\text{—}4\text{ }^{\circ}\text{C}$  в стеклянной таре с притертой пробкой в течение недели.

## 9. Проведение определения

### 9.1. Определение дифлубензурана в ягодах винограда

9.1.1. *Экстракция.* Для экстракции дифлубензурана навеску ягод массой  $(10 \pm 0,1)$  г помещают в  $50\text{-см}^3$  пробирку, добавляют  $30\text{ см}^3$  ацетонитрила, измельчают, перемешивают 1—2 мин вручную либо на встряхивателе, центрифугируют 10 мин при 4 000 об./мин, супернатант декантируют в мерный цилиндр на  $100\text{ см}^3$ . Экстракцию повторяют два раза. Объем объединенных растворов доводят ацетонитрилом до  $100\text{ см}^3$ . Для последующего анализа отбирают  $20\text{ см}^3$  раствора (или aliquоту 20 % экстракта) и переносят в испарительную колбу объемом  $50\text{ см}^3$ . Растворитель упаривают из полученного раствора на роторном испарителе при температуре не выше  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . 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  $2\text{ см}^3$  ацетонитрила и добавляют  $8\text{ см}^3$  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 ( $12\text{ см}^3$ ), промывают патрон этим раствором, элюат отбрасывают. Патрон подсушивают током воздуха 1 мин. Анализ смывают в испарительную колбу объемом  $50\text{ см}^3$  ацетонитрилом (объем  $3\text{ см}^3$ ). Растворитель отгоняют из полученного раствора на роторном испарителе при температуре не выше  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . 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<sup>3</sup> элюента № 2 и вносят в кондиционированный патрон. Колбу обмывают 5 см<sup>3</sup> элюента № 2 и также вносят в патрон. Элюат отбрасывают. Анализ смывают элюентом № 3 (3 см<sup>3</sup>) в испарительную колбу объемом 50 см<sup>3</sup>. Растворитель упаривают из полученного раствора на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С.

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

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

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

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

### 9.3. *Условия хроматографирования*

Ультразффективный 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<sup>3</sup>/мин. Рабочая длина волны УФ-детектора 260 нм. Объем вводимой пробы 10 мм<sup>3</sup>. Время удерживания дифлубензурана (1,50 ± 0,07) мин.

## 10. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки, содержание дифлубензурана 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 дифлубензурана на хроматограмме испытуемого образца, мм<sup>2</sup> (AU);

$K$  – 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;

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

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

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор дифлубензурана 1 мкг/см<sup>3</sup> разбавляют подвижной фазой.

## 11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

$X_1, X_2$  – 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 0,01 мг/кг\*, где \* 0,01 мг/кг – предел обнаружения дифлубензурана 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  $C_d$  должна удовлетворять условию:

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

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

$$\Delta_n = \pm 0,84 \Delta$$

$\Delta$  – 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  $K_x$  рассчитывают по формуле:

$$K_x = X' - X - C_d, \text{ где}$$

$X'$ ,  $X$ ,  $C_d$  – 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:

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

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), %.



**Определение остаточных количеств дифлубензурана 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

Тираж 100 экз.

Печ. л. 1,0  
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