Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств спинозинов А и Д в плодах томатов, томатном соке, в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3415—17

Издание официальное

Москва • 2017

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 спинозинов А и Д в плодах томатов, томатном соке, в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3415—17

ББК 51.23
О-62

О-62 **Определение** остаточных количеств спинозинов А и Д в плодах томатов, томатном соке, в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—27 с.

ISBN 978—5—7508—1571—5

1. Разработаны Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза России (А. В. Довгилевич, Е. В. Довгилевич, Н. В. Устименко, Е. Н. Тестова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 декабря 2016 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 14 февраля 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978—5—7508—1571—5

© Роспотребнадзор, 2017

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств спинозинов А и Д в плодах томатов, томатном соке, в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.3415—17

Свидетельство о метрологической аттестации МВИ от 31.03.2016 № РОСС RU.0001.310430/0257.31.03.2016.

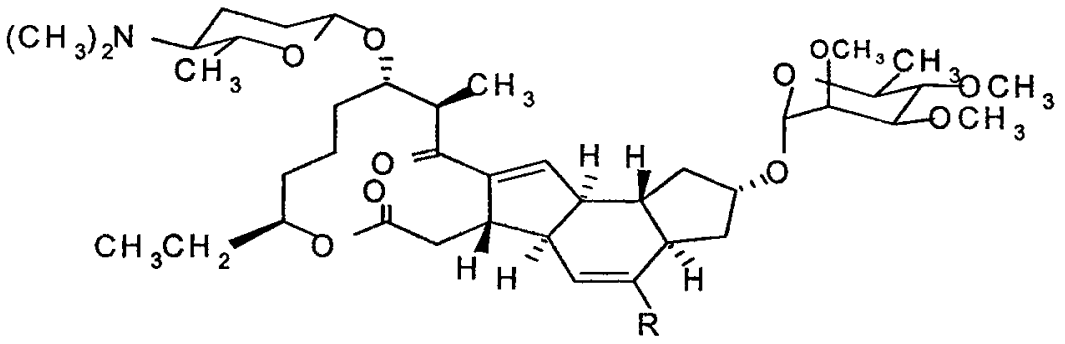
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств спинозинов А и Д в плодах томатов и томатном соке, в луке-перо и луке-репке в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг (каждого) и 0,1—1,0 мг/кг (по сумме спинозинов А и Д).

Методические указания носят рекомендательный характер.

Спиносад

Спиносад – смесь (2*R*,3a*R*,5a*R*,5b*S*,9*S*,13*S*,14*R*,16a*S*,16b*R*)-2-(6-дезокси-2,3,4-три-*O*-метил-α-L-манно-пиранозилокси)-13-(4-диметиламино-2,3,4,6-тетрадезокси-β-Д-эритропиранозилокси)-9-этил-2,3,3a,5a,5b,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-гексадекогидро-14-метил-1*H*-8-оксациклододека-[*b*]*as*-индацен-7,15-диона и (2*S*,3a*R*,5a*S*,5b*S*,9*S*,13*S*,14*R*,16a*S*,16b*S*)-2-(6-дезокси-2,3,4-три-*O*-метила-L-маннопиранозилокси)-13-(4-диметиламино-2,3,4,6-тетрадезокси-β-Д-эритропиранозилокси)-9-этил-2,3,3a,5a,5b,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-гексадекогидро-4,14-диметил-1*H*-8-оксациклододека[*b*]*as*-индацен-7,15-диона в соотношении от 5 : 95 % до 50 : 50 %.

Структурная формула:



Спинозин A, R = H-

Спинозин D, R = CH_3-

Молекулярная масса: спинозин А – 732,0; спинозин Д – 746,0.

Эмпирическая формула: спинозин А – $C_{41}H_{65}NO_{10}$; спинозин Д – $C_{42}H_{67}NO_{10}$.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: светло-серый или белый.

Давление паров (при 25 °С): $3,0 \times 10^{-5}$ МПа – для спинозина А; $2,0 \times 10^{-5}$ МПа – для спинозина Д.

Коэффициент распределения в системе октанол–вода:

– спинозин А – K_{ow} log P 2,8 (pH 5), 4,0 (pH 7), 5,2 (pH 9);

– спинозин Д – K_{ow} log P 3,2 (pH 5), 4,5 (pH 7), 5,2 (pH 9).

Температура плавления: спинозин А – 84,0—99,5 °С; спинозин Д – 161,5—170,0 °С.

Растворимость в воде:

– спинозин А – 89 мг/дм^3 (дистиллированная вода), 235 мг/дм^3 (20 °С и при pH 7);

– спинозин Д – 0,5 мг/дм^3 (дистиллированная вода), 0,33 мг/дм^3 (20 °С и при pH 7).

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С):

– спинозин А: ацетон – 16,8; ацетонитрил – 13,4; хлористый метилен – 52,5; метанол – 19,0; гексан – 0,448; толуол – 45,7; н-октанол – 0,926;

– спинозин Д: ацетон – 1,01; ацетонитрил – 0,255; хлористый метилен – 44,8; метанол – 0,252; гексан – 0,743; толуол – 15,2; н-октанол – 0,127.

Оба вещества устойчивы к гидролизу при pH 5 и pH 7; $ДТ_{50}$ при pH 9 составляет 200 дней для спинозина А и 259 дней для спинозина Д. Фотодеградация в воде: $ДТ_{50}$ при pH 7 составляет 0,93 дня для спинозина А и 0,82 дня для спинозина Д.

Краткая токсикологическая характеристика. Спиносад относится к веществам малоопасным по острой оральной ($ЛД_{50}$ для самок крыс 3 783 мг/кг, для самцов крыс – более 5 000 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов более 2 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 5 180 мг/м^3). Он не вызывает раздражения кожи, отмечается лишь слабое покраснение глаз у кроликов. Не обладает мутагенным и нейротоксичным свойствами или репродуктивной токсичностью.

Область применения. Спиносад – инсектицид контактного и кишечного действия из группы спинозинов, обладающий парализующим эффектом.

Он эффективно подавляет развитие вредителей из отрядов жесткокрылых, бахромчатокрылых, прямокрылых, двукрылых и чешуекрылых (имаго и личинки) в посевах зерновых, плодовых, овощных и декоративных культур при норме расхода 5—40 г д.в./га. Препараты на основе спиносада используются также для борьбы с синантропными насекомыми и в ветеринарии.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ВДСД – 0,02 мг/кг массы человека;

ОДК в почве – 0,1 мг/кг;

ПДК в воде водоемов – 0,11 мг/дм^3;

ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м^3;

ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,002 мг/м^3;

МДУ в продукции (мг/кг): огурцы – 1,0; перец – 2,0; картофель – 0,5;

МДУ в импортируемой продукции (мг/кг): лук – 0,2;

ВМДУ в импортируемой продукции (мг/кг): томаты – 0,3; лук – 0,2.

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.

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительные интервалы среднего результата для полного диапазона концентраций ($n = 20$) приведены в табл. 2.

Таблица 1

Метрологические параметры для спинозина А и спинозина Д

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Спинозин А					
Плоды томатов	0,05—0,1 вкл.	50	2	7	9
	0,25—0,5 вкл.	25	2	7	9
Томатный сок	0,05—0,1 вкл.	50	5	15	21
	0,25—0,5 вкл.	25	3	7	10
Лук-перо	0,05—0,1 вкл.	50	5	13	18
	0,25—0,5 вкл.	25	6	16	23
Лук-репка	0,05—0,1 вкл.	50	4	12	17
	0,25—0,5 вкл.	25	3	7	10
Спинозин Д					
Плоды томатов	0,05—0,1 вкл.	50	3	8	11
	0,25—0,5 вкл.	25	3	9	12
Томатный сок	0,05—0,1 вкл.	50	5	14	20
	0,25—0,5 вкл.	25	2	6	9
Лук-перо	0,05—0,1 вкл.	50	4	12	17
	0,25—0,5 вкл.	25	4	11	15
Лук-репка	0,05—0,1 вкл.	50	4	10	14
	0,25—0,5 вкл.	25	3	9	13

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для спинозина А и спинозина Д

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	полнота извлечения вещества, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, ±, %
Спинозин А					
Плоды томатов	0,05	0,05—0,5	74,48	3,13	0,70
Томатный сок	0,05	0,05—0,5	79,58	4,87	1,09
Лук-перо	0,05	0,05—0,5	78,98	3,12	0,70
Лук-репка	0,05	0,05—0,5	81,12	5,09	1,14
Спинозин Д					
Плоды томатов	0,05	0,05—0,5	77,43	2,51	0,56
Томатный сок	0,05	0,05—0,5	82,41	3,97	0,89
Лук-перо	0,05	0,05—0,5	77,02	4,21	0,94
Лук-репка	0,05	0,05—0,5	80,26	3,75	0,84

2. Метод измерений

Метод основан на определении спинозинов А и Д с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта на концентрирующих патронах № 1, 2 и 3.

Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен. Специфичность обеспечивается подбором состава подвижной фазы и выбором колонок различной полярности.

3. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

3.1. Средства измерений

Весы аналитические класса точности – специальный (I) с наибольшим пределом взвешивания до 110 г и дискретностью 0,0001 г	ГОСТ Р 53228—08
Весы лабораторные общего назначения класса точности – средний (III) с наибольшим пределом взвешивания до 400 г и пределом допустимой погрешности ± 0,5 г	ГОСТ Р 53228—08
Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Микрошприц объемом 100 $мм^3$ со шкалой деления 0,001 $см^3$ и погрешностью менее 1 % от номинального объема	
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Хроматографическая система, включающая:	
– хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу;	
– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку	

результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ	
Цилиндры мерные на 10, 25, 50, 100 и 500 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Примечание. Допускается использование средств измерений с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Спинозин А, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 93,1 %	CAS 131929-60-7
Спинозин Д, аналитический стандарт с содержанием действующего вещества не менее 94,0 %	CAS 131929-63-0
Аммоний уксуснокислый, ч	ГОСТ 3117—78
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, осч, УФ-200 нм	ТУ 6-09-2167—84
Вода дистиллированная и (или) бидистиллированная (вода дистиллированная, перегнанная повторно в стеклянной емкости)	ГОСТ 6709—72
Гелий, очищенный	ТУ-51-940—80
n-Гексан, хч	ТУ 6-09-3818—89
Калий марганцовокислый, чда	ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, ч	ТУ 6-09-4711—81
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции со слабоосновным сорбентом с размером частиц 63—200 мкм, с привитыми аминогруппами (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 1)	ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с гидрофильным слабокислым сорбентом с постоянной активностью, с размером частиц 63—200 мкм (С) (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 2)	ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны для твердофазной экстракции с сильноосновным анионообменником с привитыми четвертичными аммониевыми группами (ТА) с размером частиц 63—200 мкм (С) (объем – 1 $см^3$, масса сорбента – 0,6 г) (патрон № 3)	ТУ 4215-002-05451931—94

Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Спирт метиловый (метанол), хч	ГОСТ 6995—77

Примечание. Допускается использование реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.3. Вспомогательные устройства и материалы

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами	ГОСТ 25336—82
Аппарат для встряхивания проб с возвратно-поступательным направлением колебаний, с максимальной загрузкой 10 кг, с амплитудой колебаний 30 мм и скоростью от 10 до 300 колебаний в минуту	
Банки полипропиленовые с крышками для экстракции вместимостью 250 $см^3$	
Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 $дм^3$	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Воронки лабораторные, стеклянные	ГОСТ 25336—82
Испаритель ротационный вакуумный с ручным подъемником, с диагональным конденсором и объемом испарительной колбы от 50 до 3 000 $см^3$, с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 $дм^3$ и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 $см^3$ и 4 000 $см^3$ ТС	ТУ 92-891.029—91
Колонка хроматографическая стальная длиной 150 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18	

Насос диафрагменный, химически стойкий на 100 % с мощностью электропривода 245 Вт, предельным вакуумом 100 мбар/абс, с избыточным давлением 1 бар и скоростью откачки 34 дм^3/мин	
Предколонка хроматографическая стальная длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С8	
Миксер ручной погружной мощностью 260 Вт и с максимальной скоростью вращения от 2 000 до 12 500 об./мин	
Стаканы стеклянные, термостойкие объемом 100—500 см^3	ГОСТ 25336—82
Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см^3 и приемной конической колбой объемом 1 000 см^3	
Фильтры обеззоленные нейтральные, быстро фильтрующие диаметром 11 см, зольность одного фильтра 0,00072 г	ТУ-6-09-1678—86
Шприц инъекционный многократного применения объемом 10 см^3	ГОСТ 22967—90

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 ГОСТу 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостный хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТу 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТу 12.4.009—83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313—03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТу 12.0.004—91.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения анализа, освоившие метод анализа в процессе тренировки и уложившиеся в нормативы контроля при проведении процедуры контроля погрешности анализа.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

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

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

7. Подготовка к выполнению определений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, подготовка концентрирующих патронов № 1, 2 и 3 для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на концентрирующих патронах № 1, 2 и 3, установление градуировочной характеристики.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей.

Ацетонитрил перегоняют при температуре 81,5 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 81,5 °С, отбрасывают.

7.1.2. Очистка ацетона

Ацетон, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/дм^3. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см^3 аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцовокислый калий из расчета 100 мг/дм^3. Ацетон перегоняют при

температуре 56,2 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 56,2 °С, отбрасывают.

7.1.3. Приготовление бидистиллированной воды

Дистиллированную воду помещают в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 $см^3$ от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/$дм^3$ и кипятят в течение 6 часов.

Собирают фракции, отогнанные при температуре 100,0 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 100,0 °С, отбрасывают.

7.1.4. Очистка гексана

Гексан, содержащий воду, предварительно осушают, добавляя в него гранулированный безводный хлористый кальций из расчета не менее 100 г/$дм^3$. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем гексан сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 $см^3$ аппарата для перегонки растворителей.

Гексан перегоняют при температуре 68,7 °С, а фракции, отогнанные при температуре ниже и выше 68,7 °С, отбрасывают.

7.2. Приготовление растворов для проведения анализа

7.2.1. Приготовление 2%-го водного раствора уксуснокислого аммония

В мерную колбу объемом 1 000 $см^3$ переносят 20 г аммония уксуснокислого, добавляют 500 $см^3$ бидистиллированной воды и перемешивают до полного растворения соли. Доводят водой объем в колбе до метки и еще раз тщательно перемешивают. Раствор хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

В плоскодонную колбу объемом 1 $дм^3$ помещают 350 $см^3$ ацетонитрила, 350 $см^3$ метанола и 200 $см^3$ 2%-го водного раствора уксуснокислого аммония. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 $см^3$/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту.

7.2.3. Приготовление смеси для растворения проб и приготовления стандартных растворов

В колбу объемом 100 $см^3$ помещают 50 $см^3$ ацетонитрила, прибавляют 50 $см^3$ метанола и тщательно перемешивают. Смесь используют для растворения проб и приготовления стандартных растворов.

7.2.4. Приготовление градуировочных растворов

Спинозин А и спинозин Д разлагаются под воздействием света. При работе как со стандартными растворами, так и с аналитическими пробами следует соблюдать меры предосторожности: защищать от света (например, обертывать черной бумагой) колбы с экстрактами, концентрирующие патроны № 1, 2 и 3, концентраторы с сухим остатком экстракта. Процедуры очистки экстрактов в делительных воронках и упаривания экстрактов на ротационном вакуумном испарителе необходимо проводить в затемненной комнате (без включения электрического света).

7.2.4.1. Стандартный раствор № 1 с концентрацией спинозина А 100,0 мкг/$см^3$. Взвешивают 10 мг спинозина А в мерной колбе объемом 100 $см^3$. Навеску растворяют в смеси для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3) и доводят объем до метки этой же смесью. Полученный стандартный раствор № 1 используется для приготовления смесевых стандартных растворов спинозинов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 1 хранят в холодильнике не более 2 месяцев.

7.2.4.2. Стандартный раствор № 2 с концентрацией спинозина Д 100,0 мкг/$см^3$. Взвешивают 10 мг спинозина Д в мерной колбе объемом 100 $см^3$. Навеску растворяют в смеси для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3) и доводят объем до метки этой же смесью. Полученный стандартный раствор № 2 используется для приготовления смесевых стандартных растворов спинозинов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 2 хранят в холодильнике не более 2 месяцев.

7.2.4.3. Стандартный раствор № 3 с концентрацией спинозина А и спинозина Д по 10,0 мкг/$см^3$ каждого. Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 10 $см^3$, помещают в мерную колбу объемом 100 $см^3$. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 10 $см^3$ и помещают в ту же колбу объемом 100 $см^3$, доводят объем до метки смесью для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 3 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависи-

мости. Стандартный раствор № 3 хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.4.4. Стандартный раствор № 4 с концентрацией спинозина А и спинозина Д по 5,0 мкг/см^3 каждого. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3, доводят объем до метки смесью для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 4 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 4 хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.4.5. Стандартный раствор № 5 с концентрацией спинозина А и спинозина Д по 2,5 мкг/см^3 каждого. Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3, доводят объем до метки смесью для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 5 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 5 хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.4.6. Стандартный раствор № 6 с концентрацией спинозина А и спинозина Д по 1,0 мкг/см^3 каждого. Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3, доводят объем до метки смесью для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 6 используется для приготовления стандартных растворов для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 6 хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.4.7. Стандартный раствор № 7 с концентрацией спинозина А и спинозина Д по 0,5 мкг/см^3 каждого. Из стандартного раствора № 6 отбирают пипеткой 5 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3, доводят объем до метки смесью для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 7 используется для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 7 хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.4.8. Стандартный раствор № 8 с концентрацией спинозина А и спинозина Д по 0,25 мкг/см^3 каждого. Из стандартного раствора № 5 отбирают пипеткой 1 см^3, помещают в мерную колбу объемом 10 см^3, доводят объем до метки смесью для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3). Стандартный раствор № 8 используется для хроматографического исследования и для установления градуировочной зависимости. Стандартный раствор № 8 хранят в холодильнике не более 1 месяца.

7.2.4.9. Стандартные растворы спинозина А и спинозина Д с концентрациями 10,0; 5,0; 2,0 и 1,0 мкг/см^3 для хроматографического исследования и для внесения в контрольные образцы. Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 10,0; 5,0; 2,0 и 1,0 мкг/см^3 и используют эти растворы для хроматографического исследования и для внесения в контрольные образцы.

7.3. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади (высоты) пика от концентрации спинозина А и спинозина Д в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений.

7.4. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения спинозинов А и Д на них

7.4.1. Подготовка концентрирующих патронов № 1 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см^3/мин.

Патрон № 1 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: патрон последовательно промывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и 10 см^3 гексана. Элюаты отбрасывают. Нельзя допускать высыхания патрона.

7.4.2. Проверка хроматографического поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 1

Для проверки хроматографического поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 1 готовят контрольный экстракт анализируемой матрицы (плоды томата, томатный сок, лук-перо и лук-репка) по соответствующей методике и проводят все процедуры очистки, предшествующие очистке на патронах.

Из стандартного раствора спинозина А и спинозина Д в ацетонитриле, содержащего по 10 мкг/см^3 каждого соединения, отбирают 1 см^3, помещают в концентратор объемом 100 см^3 с контрольной пробой матрицы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при

температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ ацетона, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор прибавляют 9 $см^3$ гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор обмывают сначала 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 9 : 1, а затем двумя порциями по 5 $см^3$ каждая смеси гексана с ацетоном в соотношении 9 : 1 и последовательно вносят растворы на патрон. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 $см^3$ и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие спинозин А и спинозин Д, полноту смывания и необходимый объем элюента.

Изучение поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 1 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

7.5. Подготовка концентрирующих патронов № 2 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения спинозинов А и Д на них

7.5.1. Подготовка концентрирующих патронов № 2 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 $см^3$/мин.

Патрон № 2 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 $см^3$ (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1. Элюат отбрасывают.

7.5.2. Проверка хроматографического поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 2

Для проверки хроматографического поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 1 готовят контрольный экстракт анализируемой матрицы (плоды томата, томатный сок, лук-перо и лук-репка) по соответствующей методике и проводят все процедуры очистки, предшествующие очистке на патронах.

Из стандартного раствора спинозина А и спинозина Д в ацетонитриле, содержащего по 10 мкг/см^3 каждого соединения, отбирают 1 см^3, помещают в концентратор объемом 100 см^3 с контрольной пробой матрицы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор обмывают сначала 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, а затем двумя порциями по 10 см^3 ацетона и двумя порциями по 10 см^3 смеси ацетонитрила с метанолом в соотношении 1 : 1 и вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 см^3, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие спинозин А и спинозин Д, полноту смывания и необходимый объем элюента.

Изучение поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 2 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

7.6. Подготовка концентрирующих патронов № 3 для очистки экстрактов и проверка хроматографического поведения спинозинов А и Д на них

7.6.1. Подготовка концентрирующих патронов № 3 для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 см^3/мин.

Патрон № 3 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 см^3 (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: патрон промывают последовательно 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и 10 см^3 гексана. Элюаты отбрасывают. Нельзя допускать высыхания патрона.

7.6.2. Проверка хроматографического поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 3

Для проверки хроматографического поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 1 готовят контрольный экстракт анализируемой матрицы (плоды томата, томатный сок, лук-перо и лук-репка) по соответствующей методике и проводят все процедуры очистки, предшествующие очистке на патронах.

Из стандартного раствора спинозина А и спинозина Д в ацетонитриле, содержащего по 10 мкг/см^3 каждого соединения, отбирают 1 см^3, помещают в концентратор объемом 100 см^3 с контрольной пробой матрицы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 ацетона, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор прибавляют 8 см^3 гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор обмывают сначала двумя порциями по 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1 и последовательно вносят растворы на патрон. Элюат после прохождения каждой порции элюентов собирают в отдельные концентраторы объемом по 100 см^3 и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 см^3 смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

Определяют фракции, содержащие спинозин А и спинозин Д, полноту смывания и необходимый объем элюента.

Изучение поведения спинозинов А и Д на концентрирующих патронах № 3 проводят каждый раз при отработке методики или поступлении новой партии патронов.

7.7. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку с предколонкой устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 30 °С и скорости потока подвижной фазы 1 см^3/мин 3—4 часа.

8. Отбор проб и хранение

Отбор проб проводится 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 Р 51783—01 «Лук репчатый свежий, реализуемый в розничной торговой сети. ТУ», ГОСТ Р 55906—13 «Томаты свежие, реализуемые в розничной торговой сети», ГОСТ Р 32876—14 «Консервы. Соки овощные, Сок томатный, ТУ».

Пробы лука и плодов томатов хранят в холодильнике в полиэтиленовых пакетах при температуре 0—4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранятся в морозильной камере при температуре – 18 °С.

Пробы томатного сока хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С не более 5 суток.

9. Выполнение определения

9.1. Плоды томатов

9.1.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец измельченных плодов томатов массой 20 г помещают в стеклянный стакан объемом 500 см^3, прибавляют 100 см^3 ацетонитрила и перемешивают 1 минуту с помощью погружного миксера. Экстракт фильтруют через фильтр низкой плотности в защищенную от света коническую колбу объемом 250 см^3 с 5 г хлорида натрия, остаток на фильтре промывают 10 см^3 ацетонитрила, перемешивают и выдерживают 5 минут. Затем объединенный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 см^3 (нерастворившуюся соль оставляют в колбе) и после разделения фаз нижний водный слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт в делительной воронке промывают двумя порциями гексана объемом по 50 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая воронку по 2 минуты. После полного разделения фаз отбрасывают выделившийся нижний водный слой и верхний гексановый слой. Ацетонитрильный экстракт переносят в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия, осушитель в колбе промывают 10 см^3 ацетонитрила, объединяют с основным экстрактом и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

9.1.2. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1

Сухой остаток, полученный по п. 9.1.1, растворяют в 1 см^3 ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, прибавляют в концентратор 9 см^3 гексана, перемешивают и вносят на подготовленный патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см^3. Исходный концентратор обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 9 : 1 и также

вносят на патрон, элюаты объединяют в концентраторе объемом 100 $см^3$ и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 4 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.2. Томатный сок

9.2.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец томатного сока массой 20 г помещают в стеклянный стакан объемом 500 $см^3$, прибавляют 100 $см^3$ ацетонитрила и перемешивают 1 минуту с помощью погружного миксера. Экстракт фильтруют через фильтр низкой плотности в защищенную от света коническую колбу объемом 250 $см^3$ с 5 г хлорида натрия, остаток на фильтре промывают 10 $см^3$ ацетонитрила, перемешивают и выдерживают 5 минут. Затем объединенный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 $см^3$ (нерастворившуюся соль оставляют в колбе) и после разделения фаз нижний водный слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт в делительной воронке промывают двумя порциями гексана объемом по 50 $см^3$, каждый раз интенсивно встряхивая воронку по 2 минуты. После полного разделения фаз отбрасывают выделившийся нижний водный слой и верхний гексановый слой. Ацетонитрильный экстракт переносят в концентратор объемом 250 $см^3$ через слой безводного сульфата натрия, осушитель в колбе промывают 10 $см^3$ ацетонитрила, объединяют с основным экстрактом и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта по п. 9.1.2 «Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 1».

После очистки элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 4 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.3. Лук-репка

9.3.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец измельченного лука-репки массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 $см^3$, защищенную от света, прибавляют 50 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотношении 8 : 2 и помещают на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 50 $см^3$ смеси ацетонитрила с водой в соотно-

шении 8 : 2 и помещая на 5 минут в ультразвуковую ванну, а затем на 5 минут на аппарат для встряхивания проб. Экстракт фильтруют через фильтр низкой плотности в защищенную от света коническую колбу объемом 250 см^3 с 5 г хлорида натрия, перемешивают и выдерживают на 5 минут. Затем объединенный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 см^3 (нерастворившуюся соль оставляют в колбе) и после разделения фаз нижний водный слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт в делительной воронке промывают двумя порциями гексана объемом по 50 см^3, каждый раз интенсивно встряхивая воронку по 2 минуты. После полного разделения фаз отбрасывают выделившийся нижний водный слой и верхний гексановый слой. Ацетонитрильный экстракт переносят в концентратор объемом 250 см^3 через слой безводного сульфата натрия, осушитель в колбе промывают 10 см^3 ацетонитрила, объединяют с основным экстрактом и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

9.3.2. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 2

Сухой остаток, полученный по п. 9.3.1, растворяют в 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и вносят на подготовленный патрон, элюат отбрасывают. Исходный концентратор сначала обмывают 10 см^3 смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, а затем 10 см^3 ацетона вносят на патрон, элюаты также отбрасывают. Спинозины А и Д элюируют с патрона 10 см^3 ацетона и 10 см^3 смеси ацетонитрила с метанолом в соотношении 1 : 1, элюаты объединяют в концентраторе объемом 100 см^3 и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 4 см^3 смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм^3 пробы вводят в хроматограф.

9.4. Лук-перо

9.4.1. Экстракция и очистка полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

Образец измельченного лука-пера массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см^3, защищенную от света, прибавляют 50 см^3 смеси ацетонитрила с водой в соотношении 8 : 2 и проводят экстракцию и очистку полученного экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей по п. 9.3.1.

9.4.2. Очистка экстракта на концентрирующих патронах № 3

Сухой остаток, полученный по п. 9.4.1, растворяют в 2 см^3 ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 см^3 гексана, перемешивают и вносят на подготовленный патрон № 3. Элюат собира-

ют в концентратор объемом 100 $см^3$. Исходный концентратор обмывают 10 $см^3$ смеси гексана с ацетоном в соотношении 4 : 1 и также вносят на патрон, элюаты объединяют в концентраторе объемом 100 $см^3$ и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 4 $см^3$ смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 $мм^3$ пробы вводят в хроматограф.

9.5. Условия хроматографирования

Хроматографическая система, включающая:

– хроматограф жидкостный, снабженный термостатом для колонок с диапазоном температур от 15 до 80 °С, с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу;

– компьютерное программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех хроматограмм в процессе проведения хроматографического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм и количественный анализ.

Колонка хроматографическая стальная длиной 150 мм, с внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С18.

Предколонка хроматографическая стальная, длиной 20,0 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм, заполненная сорбентом с привитыми полярными группами С8.

Температура колонки: 30 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил – метанол – 2%-й водный раствор уксуснокислого аммония в соотношении 350 : 350 : 200.

Длина волны: 240 нм.

Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин.

Чувствительность не менее 0,005 AUFS (единиц абсорбции на шкалу).

Объем вводимой пробы 20 $мм^3$.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы спинозина А или спинозина Д с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, соответственно разбавляют.

10. Обработка результатов

Для обработки результатов хроматографического анализа используется компьютерное программное обеспечение химического анализа, которое входит в хроматографическую систему.

Альтернативная обработка результатов.

Содержание спинозина А и спинозина Д в пробах рассчитывают по формуле без учета полноты извлечения вещества из проб:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

X – содержание спинозина А или спинозина Д в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/см^3;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m – масса анализируемого образца, г (см^3);

P – содержание спинозина А или спинозина Д в аналитическом стандарте, %.

Для определения содержания спиносада в пробах суммируют содержание спинозина А и спинозина Д.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

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

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

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

r – значение предела повторяемости (табл. 1), при этом $r = 2{,}8 \times \sigma_r$.

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;

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

В случае если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание вещества в пробе менее 0,05 мг/кг»**.

* 0,05 мг/кг – предел обнаружения.

13. Контроль качества результатов измерений

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

13.1. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

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

Контроль стабильности градуировочной характеристики для спинозинов А и Д проводят при смене основных градуировочных растворов № 1 и 2 каждые 2 месяца, при смене основных градуировочных растворов № 3, 4, 5, 6, 7 и 8 – каждый месяц, а также в начале и по окончании каждой серии анализов.

При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание спинозинов А и Д в которых должно охватывать весь диапазон концентраций от 0,25 до 2,5 мкг/см^3.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемого для контроля градуировочного раствора сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C) \cdot 100}{C} \leq 2{,}75$$ для спинозина А и 2,81 для спинозина Д, где

X – концентрация спинозинов А и Д контрольного измерения, мкг/см^3;

C – известная концентрация градуировочного раствора спинозинов А и Д в смеси для приготовления стандартных растворов (п. 7.2.3), взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, мкг/см^3;

2,75 или 2,81 – погрешность градуировочной характеристики, %.

Если величина расхождения (А) превышает 2,75 или 2,81 %, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют при-

чины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других градуировочных растворов спинозинов А и Д, предусмотренных МВИ. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 7.3.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

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

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

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

Δ – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

δ – граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, табл. 1), %.

Результат контроля процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \bar{X}' - \bar{X} - C_д, \text{ где}$$

$\bar{X}'$, $\bar{X}$, $C_д$ – среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п. 11), содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце и концентрация добавки соответственно, мг/кг.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,\bar{X}'} + \Delta^2_{л,\bar{X}}}$$

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, приво-

дящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), 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, табл. 1), %.

Приложение 1

Полнота извлечения спинозина А и спинозина Д из плодов томатов, томатного сока, лука-пера и лука-репки (5 повторностей для каждой концентрации, $P = 0,95$)

Среда	Внесено, мг/кг	Обнаружено, мг/кг	Полнота определения, %
Томаты	Спинозин А		
	0,05	0,0369 ± 0,0011	73,8
	0,10	0,0726 ± 0,0016	72,6
	0,25	0,1848 ± 0,0054	73,9
	0,50	0,3881 ± 0,0046	77,6
	Спинозин Д		
	0,05	0,0391 ± 0,0014	78,3
	0,10	0,0762 ± 0,0013	76,2
	0,25	0,1914 ± 0,0073	76,6
	0,50	0,3936 ± 0,0044	78,7
Томатный сок	Спинозин А		
	0,05	0,0396 ± 0,0018	79,1
	0,10	0,0752 ± 0,0050	75,2
	0,25	0,2039 ± 0,0047	81,6
	0,50	0,4123 ± 0,1312	82,5
	Спинозин Д		
	0,05	0,0408 ± 0,0015	81,6
	0,10	0,0860 ± 0,0054	86,0
	0,25	0,2027 ± 0,0054	81,1
	0,50	0,4044 ± 0,0049	80,9
Лук-перо	Спинозин А		
	0,05	0,0387 ± 0,0014	77,3
	0,10	0,0821 ± 0,0047	82,1
	0,25	0,1894 ± 0,0138	75,8
	0,50	0,4040 ± 0,0146	80,8
	Спинозин Д		
	0,05	0,0389 ± 0,0021	77,8
	0,10	0,0774 ± 0,0030	77,4
	0,25	0,1850 ± 0,0075	74,0
	0,50	0,3943 ± 0,0193	78,9
Лук-репка	Спинозин А		
	0,05	0,0397 ± 0,0022	79,5
	0,10	0,0801 ± 0,0005	80,1
	0,25	0,2085 ± 0,0050	83,4
	0,50	0,4077 ± 0,0124	81,5
	Спинозин Д		
	0,05	0,0412 ± 0,0012	82,4
	0,10	0,0771 ± 0,0033	77,1
	0,25	0,2050 ± 0,0082	82,0
	0,50	0,3976 ± 0,0102	79,5

Определение остаточных количеств спинозинов А и Д в плодах томатов, томатном соке, в луке-перо и луке-репке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.3415—17

Ответственный за выпуск Н. В. Карташева

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

Подписано в печать 05.10.17

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,75
Тираж 125 экз. Заказ 69

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

gost.e-ecolog.ru