

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

**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 ме-  
тодом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Ме-  
тодические 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 универси-  
тетом – МСХА им. К. А. Тимирязева, Учебно-научный консультацион-  
ный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» Минсельхоза  
России (А. В. Довгилевич, Е. В. Довгилевич, Н. В. Устименко, Е. Н. Тес-  
това).

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 го-  
сударственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. По-  
повой 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.

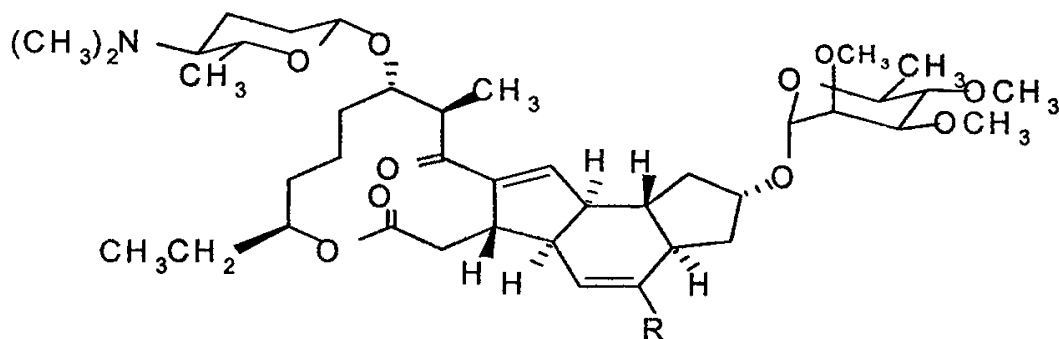
Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения уровня остаточных количеств спинозинов А и Д в плодах томатов и томатном соке, в луке-перо и луке-репке в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг (каждого) и 0,1—1,0 мг/кг (по сумме спинозинов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

Методические указания носят рекомендательный характер.

**Спиносад**

Спиносад – смесь (2*R*,3*aR*,5*aR*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bR*)-2-(6-дезоксидодека-2,3,4-три-*O*-метил- $\alpha$ -*L*-манно-пиранозилокси)-13-(4-диметиламино-2,3,4,6-тетрадезоксид- $\beta$ -*D*-эритропиранозилокси)-9-этил-2,3,3*a*,5*a*,5*b*,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16*a*,16*b*-гексадекогидро-14-метил-1*H*-8-оксациклододека-[*b*]-индацен-7,15-диона и (2*S*,3*aR*,5*aS*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bS*)-2-(6-дезоксидодека-2,3,4-три-*O*-метил- $\alpha$ -*L*-маннопиранозилокси)-13-(4-диметиламино-2,3,4,6-тетрадезоксид- $\beta$ -*D*-эритропиранозилокси)-9-этил-2,3,3*a*,5*a*,5*b*,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16*a*,16*b*-гексадекогидро-4,14-диметил-1*H*-8-оксациклододека-[*b*]-индацен-7,15-диона в соотношении от 5 : 95 % до 50 : 50 %.

Структурная формула:



Спинозин А, R = H-

Спинозин D, R = CH<sub>3</sub> -

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

Эмпирическая формула: спинозин А – C<sub>41</sub>H<sub>65</sub>NO<sub>10</sub>; спинозин D – C<sub>42</sub>H<sub>67</sub>NO<sub>10</sub>.

Агрегатное состояние: порошок.

Цвет, запах: светло-серый или белый.

Давление паров (при 25 °С): 3,0 × 10<sup>-5</sup> МПа – для спинозина А; 2,0 × 10<sup>-5</sup> МПа – для спинозина D.

Коэффициент распределения в системе октанол–вода:

– спинозин А – K<sub>ow</sub> log P 2,8 (рН 5), 4,0 (рН 7), 5,2 (рН 9);

– спинозин D – K<sub>ow</sub> log P 3,2 (рН 5), 4,5 (рН 7), 5,2 (рН 9).

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

Растворимость в воде:

– спинозин А – 89 мг/дм<sup>3</sup> (дистиллированная вода), 235 мг/дм<sup>3</sup> (20 °С и при рН 7);

– спинозин D – 0,5 мг/дм<sup>3</sup> (дистиллированная вода), 0,33 мг/дм<sup>3</sup> (20 °С и при рН 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 D: 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<sub>50</sub> при pH 9 составляет 200 дней для спинозина А и 259 дней для спинозина Д. Фотодеградация в воде: ДТ<sub>50</sub> 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<sub>50</sub> для самок крыс 3 783 мг/кг, для самцов крыс – более 5 000 мг/кг) и дермальной (ЛД<sub>50</sub> для кроликов более 2 000 мг/кг) токсичности, но к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности (ЛК<sub>50</sub> для крыс (4 ч) более 5 180 мг/м<sup>3</sup>). 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<sup>3</sup>;

ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м<sup>3</sup>;

ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,002 мг/м<sup>3</sup>;

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), $\pm\delta$ , % $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости, $\sigma_r$ , %	Предел повторяемости, $r$ , %	Предел воспроизводимости, $R$ , %
<b>Спинозин А</b>					
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
<b>Спинозин Д</b>					
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, $\pm$ , %
<b>Спинозин А</b>					
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
<b>Спинозин Д</b>					
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 $\pm 0,5$ г | ГОСТ Р 53228—08 |
| Колбы мерные на 10, 25, 50, 100, 500 и 1 000 см <sup>3</sup>   | ГОСТ 1770—74    |
| Микрошприц объемом 100 мм <sup>3</sup> со шкалой деления 0,001 см <sup>3</sup> и погрешностью менее 1 % от номинального объема                               |                 |
| Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5,0 см <sup>3</sup>  | 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<sup>3</sup> 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 <sup>3</sup> , 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 <sup>3</sup> , 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 <sup>3</sup> , масса сорбента — 0,6 г) (патрон № 3)	ТУ 4215-002-05451931—94

Натрий серноокислый, 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 <sup>3</sup>	
Ванна ультразвуковая с потребляемой мощностью 140 Вт, рабочей частотой 50 Гц, рабочим объемом 4,5 дм <sup>3</sup>	
Вата медицинская гигроскопическая хлопковая нестерильная	ГОСТ 5556—81
Воронки делительные на 250 см <sup>3</sup>	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 <sup>3</sup> , с изменяемой скоростью вращения штока испарителя от 5 до 240 об./мин, с водяной баней с антикоррозионным покрытием объемом 5 дм <sup>3</sup> и с диапазоном температур от 20 до 100 °С	
Колбы конические плоскодонные на 100, 250 и 1 000 см <sup>3</sup>	ГОСТ 25336—82
Колбы круглодонные со шлифом (концентраторы) на 100, 250 см <sup>3</sup> и 4 000 см <sup>3</sup> 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<sup>3</sup>/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<sup>3</sup>

ГОСТ 25336—82

Установка для перегонки растворителей с круглодонной колбой объемом 4 000 см<sup>3</sup> и приемной конической колбой объемом 1 000 см<sup>3</sup>

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<sup>3</sup>

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  $(20 \pm 5)$  °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<sup>3</sup>. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетонитрил сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем ацетон сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см<sup>3</sup> аппарата для перегонки растворителей, прибавляют туда марганцовокислый калий из расчета 100 мг/дм<sup>3</sup>. 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<sup>3</sup> от аппарата для перегонки растворителей, добавляют к ней марганцовокислый калий из расчета 1 г/дм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>. Выдерживают его над осушителем в течение 5—6 часов. Затем гексан сливают с осушителя в круглодонную колбу со шлифом объемом 4 000 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> переносят 20 г аммония уксуснокислого, добавляют 500 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> помещают 350 см<sup>3</sup> ацетонитрила, 350 см<sup>3</sup> метанола и 200 см<sup>3</sup> 2%-го водного раствора уксуснокислого аммония. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 см<sup>3</sup>/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<sup>3</sup> помещают 50 см<sup>3</sup> ацетонитрила, прибавляют 50 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>*. Взвешивают 10 мг спинозина А в мерной колбе объемом 100 см<sup>3</sup>. 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<sup>3</sup>*. Взвешивают 10 мг спинозина Д в мерной колбе объемом 100 см<sup>3</sup>. 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<sup>3</sup> каждого*. Из стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой 10 см<sup>3</sup>, помещают в мерную колбу объемом 100 см<sup>3</sup>. Из стандартного раствора № 2 отбирают пипеткой 10 см<sup>3</sup> и помещают в ту же колбу объемом 100 см<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> каждого.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 5 см<sup>3</sup>, помещают в мерную колбу объемом 10 см<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> каждого.* Из стандартного раствора № 4 отбирают пипеткой 5 см<sup>3</sup>, помещают в мерную колбу объемом 10 см<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> каждого.* Из стандартного раствора № 3 отбирают пипеткой 1 см<sup>3</sup>, помещают в мерную колбу объемом 10 см<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> каждого.* Из стандартного раствора № 6 отбирают пипеткой 5 см<sup>3</sup>, помещают в мерную колбу объемом 10 см<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> каждого.* Из стандартного раствора № 5 отбирают пипеткой 1 см<sup>3</sup>, помещают в мерную колбу объемом 10 см<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки с концентрацией 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см<sup>3</sup>.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>/мин.

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

Кондиционирование: патрон последовательно промывают 10 см<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и 10 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> каждого соединения, отбирают 1 см<sup>3</sup>, помещают в концентратор объемом 100 см<sup>3</sup> с контрольной пробой матрицы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при



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

Исходный концентратор обмывают сначала 10 см<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 9 : 1, а затем двумя порциями по 5 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>/мин.

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

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 5 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> каждого соединения, отбирают 1 см<sup>3</sup>, помещают в концентратор объемом 100 см<sup>3</sup> с контрольной пробой матрицы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 10 см<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1, перемешивают и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см<sup>3</sup>, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор обмывают сначала 10 см<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, а затем двумя порциями по 10 см<sup>3</sup> ацетона и двумя порциями по 10 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, сухой остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>/мин.

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

Кондиционирование: патрон промывают последовательно 10 см<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и 10 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> каждого соединения, отбирают 1 см<sup>3</sup>, помещают в концентратор объемом 100 см<sup>3</sup> с контрольной пробой матрицы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> ацетона, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор прибавляют 8 см<sup>3</sup> гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> пробы вводят в хроматограф.

Исходный концентратор обмывают сначала двумя порциями по 10 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>/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 микрочислест

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<sup>3</sup>, прибавляют 100 см<sup>3</sup> ацетонитрила и перемешивают 1 минуту с помощью погружного миксера. Экстракт фильтруют через фильтр низкой плотности в защищенную от света коническую колбу объемом 250 см<sup>3</sup> с 5 г хлорида натрия, остаток на фильтре промывают 10 см<sup>3</sup> ацетонитрила, перемешивают и выдерживают 5 минут. Затем объединенный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 см<sup>3</sup> (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<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> через слой безводного сульфата натрия, осушитель в колбе промывают 10 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, прибавляют в концентратор 9 см<sup>3</sup> гексана, перемешивают и вносят на подготовленный патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 см<sup>3</sup>. Исходный концентратор обмывают 10 см<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 9 : 1 и также

вносят на патрон, элюаты объединяют в концентрате объемом 100 см<sup>3</sup> и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 4 см<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>, прибавляют 100 см<sup>3</sup> ацетонитрила и перемешивают 1 минуту с помощью погружного миксера. Экстракт фильтруют через фильтр низкой плотности в защищенную от света коническую колбу объемом 250 см<sup>3</sup> с 5 г хлорида натрия, остаток на фильтре промывают 10 см<sup>3</sup> ацетонитрила, перемешивают и выдерживают 5 минут. Затем объединенный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 см<sup>3</sup> (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<sup>3</sup>, 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 концентрат объемом 250 см<sup>3</sup> через слой безводного сульфата натрия, осушитель в колбе промывают 10 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>, защищенную от света, прибавляют 50 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> с 5 г хлорида натрия, перемешивают и выдерживают на 5 минут. Затем объединенный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 см<sup>3</sup> (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<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> через слой безводного сульфата натрия, осушитель в колбе промывают 10 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 1 и вносят на подготовленный патрон, элюат отбрасывают. Исходный концентратор сначала обмывают 10 см<sup>3</sup> смеси гексана с ацетоном в соотношении 1 : 2, а затем 10 см<sup>3</sup> ацетона вносят на патрон, элюаты также отбрасывают. Спинозины А и Д элюируют с патрона 10 см<sup>3</sup> ацетона и 10 см<sup>3</sup> смеси ацетонитрила с метанолом в соотношении 1 : 1, элюаты объединяют в концентраторе объемом 100 см<sup>3</sup> и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

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

### **9.4. Лук-поро**

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

Образец измельченного лука-поро массой 20 г помещают в полипропиленовую банку для экстракции объемом 250 см<sup>3</sup>, защищенную от света, прибавляют 50 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, прибавляют 8 см<sup>3</sup> гексана, перемешивают и вносят на подготовленный патрон № 3. Элюат собира-

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

Сухой остаток растворяют в 4 см<sup>3</sup> смеси для растворения проб (п. 7.2.3) и 20 мм<sup>3</sup> 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<sup>3</sup>/мин.

Чувствительность не менее 0,005 АУФС (единиц адсорбции на шкалу).

Объем вводимой пробы 20 мм<sup>3</sup>.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы спионозина А или спионозина Д с концентрацией 2,5 мкг/см<sup>3</sup>, 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:

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

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

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

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

$A$  – концентрация стандартного раствора, мкг/см<sup>3</sup>;

$V$  – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см<sup>3</sup>;

$m$  – масса анализируемого образца, г (см<sup>3</sup>);

$P$  – 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:

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

$X_1, X_2$  – 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:

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

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

$\Delta$  – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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



$\delta$  – 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<sup>3</sup>.

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

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

X – концентрация спинозинов А и Д контрольного измерения, мкг/см<sup>3</sup>;

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<sup>3</sup>;

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  $C_{\delta}$  должна удовлетворять условию:

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

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

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

$\Delta$  – граница абсолютной погрешности, мг/кг:

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

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

Результат контроля процедуры  $K_k$  рассчитывают по формуле:

$$K_k = \bar{X}' - \bar{X} - C_{\delta}, \text{ где}$$

$\bar{X}'$ ,  $\bar{X}$ ,  $C_{\delta}$  – 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:

$$K = \sqrt{\Delta_{n,\bar{X}'}^2 + \Delta_{n,\bar{X}}^2}$$

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, 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 ( $R$ ):

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

$X_1, X_2$  – 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
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
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
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

Тираж 125 экз.

Печ. л. 1,75  
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