УТВЕРЖДАЮ

Главный Государственный санитарный врач
Первый заместитель Министра
здравоохранения Российской Федерации

Г.Г.ОНИЩЕНКО
2004 г.

МУК 4.1.1402-04

Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания

по определению остаточных количеств Хлорпирифоса в корнеплодах сахарной свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

1.Вводная часть.

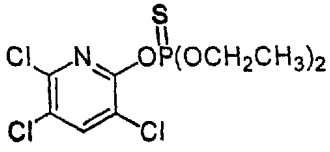
Фирма производитель: ДауАгроСаенсес.

Торговое название: Дурсбан.

Название действующего вещества по ИСО: Хлорпирифос.

Название по ИЮПАК: О,О-диэтил О-(3,5,6-трихлоро-2-пиридил) фосфоротиоат

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$.

Молекулярная масса: 350,6.

Химически чистый Хлорпирифос представляет собой белое кристаллическое вещество.

Точка плавления: 42-43,5°С.

Давление паров: 2,7 мПа при 25°С.

Коэффициент перераспределения октанол/вода: K_{ow} logP = 4,7 (20 °С).

gost.e-ecolog.ru

Растворимость: в бензоле – 7900, ацетоне – 6500, хлороформе – 6300, диэтиловом эфире – 5100, ксилоле – 4000, этаноле – 630 в воде – 1,4 (при 25°С) мг/л.
Устойчив в нейтральной и кислой средах, относительно быстро гидролизуется в щелочной среде. Период полураспада в почве: $ДТ_{50}$ - 60-120 дней.

Краткая токсикологическая характеристика: Хлорпирифос относится к веществам опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ крысы –135-163мг/кг), умеренно опасным по дермальной ($ЛД_{50}$ крысы –2000 мг/кг) и опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ крысы – 4 часа - 0,2 мг/л). Следует предотвращать попадание препарата на открытые участки кожи; при попадании на кожу немедленно смыть водой с мылом и промыть кожу содовым раствором.

ПДК в воздухе рабочей зоны – 0,3 мг/м^3; в воде санитарно-бытового назначения – 0,002 мг/л; в почве 0,2 мг/кг. МДУ (в мг/кг) в сахарной свекле и кукурузе – 0,0006; в картофеле – 0,006; в яблоках – 0,01.

Токсичен для пчел и других полезных насекомых - LD_{50} для пчел – 0,114 мкг/особь. Умеренно опасен для диких животных, токсичен для птиц. $СК_{50}$ для радужной форели – 0,003 мг/л.

Область применения: Хлорпирифос – инсектицид контактного и кишечного действия из группы фосфорорганических соединений, обладающий длительным защитным эффектом. Он эффективно подавляет развитие вредителей из отрядов жесткокрылых, перепончатокрылых, прямокрылых, двукрылых и чешуекрылых (имаго и личинки), а также почвообитающих вредителей в посевах зерновых и овощных культур, кукурузы, хлопчатника, на плантациях картофеля, технических и плодовых культур при норме расхода 0,5-1,5 кг/га.

Зарегистрирован в России под торговым названием Дурсбан, КЭ 480 г/л, для применения на сахарной свекле, картофеле, хмеле, многолетних бобовых и пастбищных травах, на яблоне и персике с нормой расхода препарата от 0,5-3,0 л/га (до 2-х обработок за сезон).

2. Методика определения остаточных количеств Хлорпирифоса в корнеплодах сахарной свеклы.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Методика основана на определении Хлорпирифоса методом газожидкостной хроматографии с использованием детектора по захвату электронов после его экстракции из растительных проб ацетонитрилом и очистки проб на колонках с Флоризилом.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании выше упомянутых культур.

2.1.3.Метрологическая характеристика метода.

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 - 2.

Таблица 1.

Анализируемый объект	Метрологические параметры, p=0,95; n=20				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего результата %, ±
1	2	3	4	5	6
свекла	0,0006	0,0006-0,012	84,6	1,04	1,85

Таблица 2.

Доверительный интервал и полнота определения Хлорпирифоса в корнеплодах сахарной свеклы.

Среда	Добавлено Хлорпирифос мг/кг	Обнаружено Хлорпирифос мг/кг	Доверительный интервал, ±	Полнота определени
свекла	0,012	0,010	0,001	82,6
	0,006	0,005	0,0002	86,8
	0,0012	0,001	0,00003	83,6
	0,0006	0,0005	0,00004	85,6

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование.

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы.

Хлорпирифос, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,8%.

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон, ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

Гексан, ч, ТУ 2631-003-05807999-98.

Натрий сернокислый, безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76.

Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Флоризил для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш, фирмы Флюка.

2.2.2.Приборы, аппаратура, посуда.

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081 – 73 или аналогичный.

Банки с крышками для экстракции на 250 мл, полипропилен, кат.№3120-0250, NALGENE.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные

Воронки делительные на 250 и 500 мл, ГОСТ 23336-82.

Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

Колбы мерные на 10, 25, 50 мл, ГОСТ 1770-74.

Колбы конические на шлифе на 250 мл, ГОСТ 10394-72.

Колонка газохроматографическая капиллярная кварцевая длиной 30 м, с внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Концентраторы грушевидные на 100 и 250 мл НШ29 КГУ-100 (250), ГОСТ 10394-72.

Микрошприц на 10 мкл, ТУ Е-2.833.0.24.

Пипетки мерные на 1,0, 2,0 и 5,0 мл, ГОСТ 20292-74.

Испаритель ротационный, вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.

Фильтры бумажные "Красная лента" ТУ 6-09-1678-86.

Хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (^{63}Ni) "Кристалл 2000 М" с пределом детектирования по Линдану не выше $4\,10^{-14}$ и капиллярной колонкой.

Цилиндры мерные емкостью 25 и 50 мл, ГОСТ 1770-74.

2.3. *Подготовка к определению.*

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонок для газожидкостной хроматографии.

Колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе гелия при температуре на 20°С ниже предельного значения для выбранной неподвижной фазы в течение 8-10 часов.

2.3.2. *Приготовление стандартных растворов.*

Взвешивают 50 мг Хлорпирифоса в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном (стандартный раствор № 1, концентрация 1 *мг/мл). Стандартный раствор № 1 можно хранить в холодильнике в течение 6 месяцев.*

Методом последовательного разбавления готовят стандартные растворы Хлорпирифоса в ацетоне с концентрацией 0,1; 0,05; 0,01; 0,005; мкг/мл для построения калибровочного графика и внесения в контрольный образец и стандартный раствор в гексане с концентрацией 0,1 мкг/мл для проверки хроматографического поведения Хлорпирифоса на колонке с Флоризилом.

2.3.3. Подготовка колонки с Флоризилом.

В пластмассовую колонку длиной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно чистую стекловату и заполняют колонку 5 г Флоризила 60/100 меш, уплотняя его путем вибрации колонки. На слой Флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. За день до определения Флоризил в колонке промывают 20 мл ацетона, а в день определения – 10 мл гексана.

2.3.4. Проверка хроматографического поведения Хлорпирифоса на колонке с Флоризилом.

В подготовленную колонку вносят 1 мл стандартного раствора Хлорпирифоса в гексане с концентрацией 0,1 мкг/мл (раздел 2.3.2) и 4 мл гексана. Смыв отбрасывают. После этого последовательно пропускают через колонку 3-4 порции смеси гексан:ацетон (10:1) по 5 мл каждая, собирая их в отдельные концентраторы. Собранные фракции выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 1 мл гексана и вводят в хроматограф 1 мкл пробы. Фракции, содержащие Хлорпирифос, объединяют, выпаривают досуха, сухой остаток вновь растворяют в 1 мл гексана и вводят в хроматограф 1 мкл пробы. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смыва с колонки и необходимый для очистки объем элюата.

2.4. Отбор проб.

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (№ 2051-79 от 21.08.79). Пробы корнеплодов сахарной свеклы хранят в запаянных пластиковых пакетах в замороженном виде. Перед анализом свеклу измельчают на терке.

2.5. Описание определения.

Навеску измельченного материала – 25 г помещают в пластиковую банку с крышкой емкостью 250 мл и заливают 50 мл ацетонитрила. Встряхивают 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу емкостью 250 мл, на дно которой предварительно насыпают 10 г хлористого натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, заливая пробу 50 мл ацетонитрила и встряхивая каждый раз по 15 минут. Объединенный фильтрат переносят в делительную воронку емкостью 250 мл, нижний водный слой отбрасывают. Ацетонитрил сливают через слой безводного сульфата натрия в концентратор и выпаривают при температуре не выше 40°С. Остаток в концентраторе разводят в 5 мл гексана, тщательно обмывают концентратор и наносят пробу на колонку с Флоризилом. Смыв отбрасывают.

Хлорпирифос элюируют 15 мл смеси гексан:ацетон-10:1. Смыв выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе, разводят в 3 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов.

2.6.1. Условия хроматографирования.

Хроматограф «Кристалл 2000 м» детектором по захвату электронов (^{63}Ni) с пределом детектирования по Линдану не выше $4x10^{-14}$.

Колонка капиллярная кварцевая HP-5 (Crosslinked 5% фенил силоксана, 95 % метил силоксана); длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм; толщина пленки 0,25 мкм.

Температура термостата колонки программированная.

Начальная температура – 140°С, выдержка 2 минуты; нагрев колонки по 10 градусов в минуту до температуры 190°С, выдержка 10 минут; нагрев колонки по 30 градусов в минуту до температуры 260°С выдержка 5 минут.

Газовый режим – Splitless.

Газ-носитель – гелий (Г1). Тип регулятора расхода гелия – РРГ 11, линейная скорость – 17 см/сек, давление на входе 72,52 кПа.

Газ 2 (Г2) – гелий (продувка испарителя), расход 0,5 мл/мин, сброс 1:80, начало сброса – 10 секунд, длительность сброса – 2 минуты.

Газ 3 (Г3) – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 45 мл/мин.

Продувка системы после анализа при температуре 260°С в течение 2 минут: продувка испарителя гелием – 50 мл/мин; продувка детектора азотом – 50 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Хлорпирифоса – 18минут 22 секунды.

Температура испарителя - 250°С, детектора - 320°С.

Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,005 - 0,1 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрациями Хлорпирифоса 0,1 мкг/мл, разбавляют.

2.6.2. Обработка результатов анализов.

Содержание Хлорпирифоса в пробах сахарной свеклы рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{H_0 \cdot m \cdot 100} \cdot P$$

X - содержание Хлорпирифоса в пробе, мг/кг;

H_1 - площадь пика образца, мВ;

H_0 - площадь пика стандарта, мВ;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования (мл);

m - масса или объем анализируемого образца, г или мл.

P - содержание Хлорпирифоса в аналитическом стандарте.

3. Требования техники безопасности.

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами.

4. Разработчики.

Калинин В.А., профессор, канд. с-х. наук, Калинина Т.С., ст.н. сотр., канд. с-х. наук, Фролова Н.С., ст. инж.

Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов»,

127550, Москва, Тимирязевская ул. д. 53, стр. 1,

Телефон/факс: 976-37-68 / 976-43-26.

gost.e-ecolog.ru