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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств химических веществ в объектах окружающей среды, атмосферном воздухе, воздухе рабочей зоны и сельскохозяйственной продукции

Сборник методических указаний МУК 4.1.1960, 4.1.1961, 4.1.1963—4.1.1980—05

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств химических веществ в объектах окружающей среды, атмосферном воздухе, воздухе рабочей зоны и сельскохозяйственной продукции: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.—196 с.

1. Разработаны Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Токсикология пестицидов и агрохимикатов» (Калинин В. А., Калинина Т. С., Рыбакова О. И., Калинин А. В.).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно – гигиеническому нормированию Минздрава России (протокол № 1 от 31 марта 2005 г.).

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 21 апреля 2005 г.

4. Введены в действие с 1 июля 2005 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

© Роспотребнадзор, 2007
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007

Содержание

Измерение концентраций Пропетамфоса методом газожидкостной хроматографии в воздухе рабочей зоны: МУК 4.1.1960—05 5
Определение остаточных количеств дифеноконазола в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1961—05 11
Определение остаточных количеств лямбда-Цигалотрина в корнеплодах моркови и луке-репке методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1963—05 20
Определение остаточных количеств 3-гидроксикарбофурана (основного метаболита карбофурана) в корнеплодах и зелёной массе сахарной свёклы, в семенах и масле рапса (горчицы) методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1964—05 29
Определение остаточных количеств флутриафола в плодах яблони, ягодах и соке винограда методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1965—05 39
Определение остаточных количеств протиоконазола по его основному метаболиту протиоконазол-дестио в зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1966—05 47
Определение остаточных количеств крезоксим-метила в огурцах, томатах, ягодах и соке винограда методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1967—05 57
Определение остаточных количеств имазетапира в воде, почве, семенах и масле сои методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1968—05 67
Определение остаточных количеств ацетохлора в ботве, корнеплодах сахарной свеклы и корнеплодах моркови методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1969—05 77
Определение остаточных количеств фипронила и его метаболитов (МВ 46513, МВ 45950, МВ 46136) в зеленой массе пастбищных трав методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1970—05 84
Определение остаточных количеств хлорпрофама в картофельных чипсах методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1971—05 93
Определение остаточных количеств метрибузина в воде, почве, томатах и картофеле методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1972—05 103
Определение остаточных количеств эпоксиконазола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1973—05 113
Определение остаточных количеств пираклостробина в зерне, соломе, зеленой массе и зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1974—05 122

Определение остаточных количеств метсульфурон-метила в семенах, масле и соломке льна методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1975—05 135
Определение остаточных количеств клопиралида в семенах, масле и соломке льна, в семенах и масле рапса методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1976—05 146
Определение остаточных количеств имидаклоприда в яблоках, капусте, ботве и корнеплодах свеклы, семенах кукурузы, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1977—05 158
Определение остаточных количеств глифосата в зерне и масле сои, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1978—05 169
Измерение концентраций протиоконазола в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1979—05 181
Определение остаточных количеств протиоконазола и его основного метаболита протиоконазола-дестио в воде, протиоконазола и протиоконазола-дестио по метаболиту протиоконазолу-дестио в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1980—05 190

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
21 апреля 2005 г.
Дата введения: 1 июля 2005 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

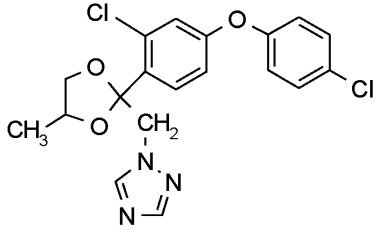
Определение остаточных количеств дифеноконазола в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1961—05

1. Вводная часть

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воде массовой концентрации дифеноконазола в диапазоне 0,0005—0,005 мг/дм^3.

Цис,транс-3-хлор-4-[4-метил-2-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил-метил)-1,3-диоксолан-2-ил-]фенил 4-хлорфениловый эфир (IUPAC)



Эмпирическая формула: $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$.

Молекулярная масса: 406,3.

Кристаллическое вещество белого или бледно-бежевого цвета. Температура плавления 78,6 °С. Давление паров при 25 °С: 3,3 х 10^{-5} мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 4,2. Раствори-

мость в органических растворителях при 25 °С (г/дм^3): ацетон – 610; этанол – 330; толуол – 490; н-октанол – 95; н-гексан – 3,4. Растворимость в воде при 25 °С (г/дм^3): 0,015.

Дифеноконазол стабилен на воздухе при температуре до 150 °С, а также в водных растворах.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1453 мг/кг, для мышей > 2000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов > 2010 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс ≥ 3300 мг/м^3.

Область применения

Дифеноконазол – системный фунгицид, рекомендуемый к применению для борьбы с болезнями яблони, груши, свеклы и зерновых культур.

ПДК в воде водоемов – 0,001 мг/дм^3.

Метрологические характеристики метода (P = 0,95, n = 24).

Предел обнаружения: 0,0005 мг/дм^3.

Диапазон определяемых концентраций: 0,0005—0,005 мг/дм^3.

Среднее значение извлечения: 86,63 %.

Стандартное отклонение: 5,37 %.

Доверительный интервал среднего результата: ± 8,21 %.

Таблица

Полнота извлечения дифеноконазола из воды (6 повторностей для каждой концентрации, P = 0,95)

Среда	Внесено дифеноконазола, мг/дм^3	Обнаружено дифеноконазола, мг/дм^3	Полнота извлечения, %
Вода	0,0005	0,0004 ± 0,0001	86,58
	0,001	0,0009 ± 0,0002	86,28
	0,0025	0,0022 ± 0,0004	86,34
	0,005	0,0044 ± 0,0008	87,26

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после экстракции из анализируемой пробы воды дихлорметаном и последующей очистки экстракта колоночной хроматографией на оксиде алюминия.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в технологии выращивания сахарной и кормовой свеклы и яблок.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США)	Номер Госреестра 15945—97
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные, вместимостью 100 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2-го класса точности, вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные, вместимостью 5 или 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 250, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Дифеноконазол с содержанием действующего вещества 99,4 % (ВНИИХСРЗ, Россия)	
Алюминий оксид для хроматографии, по Брокману II, нейтральный (фирмы «Реанал», Венгрия)	
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ-6-09-4326—76
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные	ТУ 6-09-2678—77
Воронки делительные, вместимостью 1000 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30—37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	ГОСТ 9737
Колбы плоскодонные, вместимостью 200—250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 10, 100 и 250 $см^3$	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см, внутренним диаметром 8—10 мм	
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	ТУ 25-11-917—74
Стаканы химические, вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Кромасил 100 С18, зернением 8 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа, вместимостью 50—100 $мм^3$	

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. 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 ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20 ± 5) °С и относительной влажности не более 80 %.

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

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения вещества на колонке с оксидом алюминия.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 ч, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.2. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5 %-м водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 50.

7.1.3. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 200 $см^3$ деионизованной воды, 800 $см^3$ ацетонитрила, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2) в течение 30 мин при скорости подачи растворителя 1 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление градуировочных растворов

7.4.1. Исходный раствор дифеноконазола для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,01 г дифеноконазола, растворяют в 50—70 $см^3$ ацетонитрила, доводят ацетонирилом до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3 месяцев.

Растворы № 1—6 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора.

7.4.2. Раствор № 1 дифеноконазола для градуировки (концентрация 10 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 10 $см^3$ исходного раствора дифеноконазола с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.4.1), разбавляют ацетонитрилом до метки. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения дифеноконазола из исследуемых образцов.

7.4.3. Рабочие растворы № 2—6 дифеноконазола для градуировки (концентрация 0,1—1,0 мкг/см^3)

В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 1,0; 2,0; 3,0; 5,0 и 10 см^3 градуировочного раствора № 1 с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.4.2), доводят до метки подвижной фазой (приготовленной по п. 7.2), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2—6 с концентрацией дифеноконазола 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 и 1,0 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике не более 10 дней.

7.5. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (отн. единицы) от концентрации дифеноконазола в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5 растворам для градуировки №№ 2—6.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.3. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений.

7.6. Подготовка колонки с оксидом алюминия для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 4 г оксида алюминия в 15—20 см^3 этилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. После этого колонка готова к работе.

7.7. Проверка хроматографического поведения дифеноконазола на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 0,5 см^3 раствора № 1 для градуировки (п. 7.4.2), упаривают досуха, добавляют 2 см^3 этилацетата, перемешивают и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.6. Промывают колонку 50 см^3 этилацетата со скоростью 1—2 капли в с. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 5 см^3 подвижной фазы (приготовленной по п. 7.2), анализируют на содержание дифеноконазола по п. 9.3.

Фракции, содержащие дифеноконазол, объединяют и вновь анализируют.

Рассчитывают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

Примечание: Проверку хроматографического поведения дифеноконазола следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбента и растворителя.

8. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ 17.1.3.03—77 «Правила выбора и оценки качества источников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения».

Отобранные пробы воды анализируют в день отбора или хранят при 4 °С в течение 10-ти дней.

Непосредственно перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

Образец анализируемой воды объемом 400 $см^3$ помещают в делительную воронку вместимостью 1 000 $см^3$, добавляют 50 $см^3$ хлористого метилена, интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний органический слой переносят в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$, фильтруя его через 2 см слой безводного сульфата натрия, помещенный в конусную химическую воронку диаметром 60 мм, снабженную бумажным фильтром «красная лента». Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды порциями хлористого метилена по 50 $см^3$. Отстоявшийся слой хлористого метилена (нижняя фаза) фильтруют в колбу с ранее полученным экстрактом.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, подвергают очистке в соответствии с п. 9.2.

9.2. Очистка экстракта

Остаток, полученный по п. 9.1, с помощью 1,5—2 $см^3$ этилацетата порциями переносят в колонку, подготовленную по п. 7.6, дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Дифеноконазол элюируют с колонки 25 $см^3$ этилацетата, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С почти досуха, вносят в колбу 3—4 $см^3$ н-гексана, вновь упаривают. Операцию упаривания с н-гексаном повторяют трижды.

Сухой остаток в колбе растворяют в 2 см^3 подвижной фазы (приготовленной по п. 7.10) и анализируют на содержание дифеноконазола по п. 9.3.

9.3. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Perkin-Elmer (США).

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Кромасил 100 С 18, зернением 8 мкм.

Температура колонки: комнатная.

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода (80 : 20, по объему).

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

Рабочая длина волны: 230 нм.

Чувствительность: 0,02 ед. абсорбции на шкалу.

Объем вводимой пробы: 20 мм^3.

Ориентировочное время выхода дифеноконазола: 4,4—4,6 мин.

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор дифеноконазола с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой, приготовленной по п. 7.2.

10. Обработка результатов анализа

Содержание дифеноконазола в пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot \mathrm{W}}{\mathrm{V}}, \text{ где}$$

X – содержание дифеноконазола в пробе, мг/дм^3;

A – концентрация дифеноконазола, найденная по градуировочному графику, в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

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

V – объем анализируемого образца, см^3.

11. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ ИСО 5725–1-6. 2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

12. Разработчики

Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана).

gost.e-ecolog.ru