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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний

Выпуск 3
Часть 7
МУК 4.1.1412—4.1.1415—03

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.23+51.21
О60
О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005.— Вып. 3.—Ч. 7.—39 с.

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (акад. РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева (проф. В. А. Калинин, к. х. н. А. В. Довгилевич); при участии Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России (А. П. Веселов). Разработчики методик указаны в конце каждой из них.

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по госсанэпиднормированию при Минздраве России.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, акад. РАМН Г. Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены с 30 июня 2003 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.23.+51.21

© Роспотребнадзор, 2005
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005

Содержание

Измерение концентраций карбоксина
в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе
населенных мест методом высокоэффективной жидкостной
хроматографии. МУК 4.1.1412—03 4

Измерение концентраций клефоксидима
в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной
жидкостной хроматографии. МУК 4.1.1413—03 14

Измерение концентраций кломазона в воздухе
рабочей зоны методами высокоэффективной
жидкостной и газожидкостной хроматографии.
МУК 4.1.1414—03 23

Определение кломазона в воде хроматографическими
методами. МУК 4.1.1415—03 32

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 июня 2003 г.
Дата введения: 30 июня 2003 г.

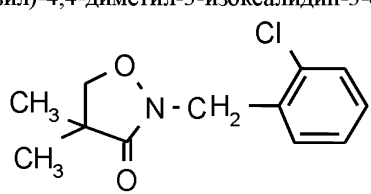
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение кломазона в воде хроматографическими методами

Методические указания
МУК 4.1.1415—03

1. Вводная часть

Фирма производитель: ФМС (США).
Торговое название: КОММАНД.
Действующее вещество: кломазон.
2-(2-хлорбензил)-4,4-диметил-3-изоксалидин-3-он (ИЮПАК)



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{14}ClNO_2$ М. м.: 239,7
Светло-коричневая вязкая жидкость.
Температура плавления: 25 °С.
Температура кипения: 275 °С.
Давление паров при 25 °С : 19,2 мПа.
Коэффициент распределения н-октанол/вода: $K_{ow}\log P = 2,5$.
Хорошо растворим в ацетоне, гексане, этаноле, метаноле, хлороформе, дихлорметане и ацетонитриле; растворимость в воде – 1,10 г/дм^3.

Стабилен при комнатной температуре не менее 2 лет, при 50 °С – не менее 3 месяцев.

Краткая токсикологическая характеристика: Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1 369 – 2 077 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 4,8 мг/дм^3 (4 ч).

Гигиенические нормативы. ПДК в воде – 0,02 мг/дм^3.

Область применения препарата. Кломазон – гербицид избирательного действия, применяемый для борьбы со злаковыми и двудольными сорными растениями в посевах сои и риса при довсходовом или предпосевном внесении.

2. Методика определения кломазона в воде хроматографическими методами

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип методики

Методика основана на извлечении кломазона из анализируемой пробы гексаном, концентрировании экстракта и последующем количественном определении альтернативными методами: высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором, газожидкостной хроматографией (ГЖХ) с детектором постоянной скорости рекомбинации или тонкослойной хроматографией (ТСХ).

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии глобальных загрязнителей окружающей среды: хлорпроизводные циклопарафинов (изомеры ГХЦГ), соединений дифенильного ряда (ДДТ и его производные), их метаболитов – полихлорированных бензолов и фенолов, а также в присутствии трихлорацетата натрия, который может применяться на посевах в качестве гербицида.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода (P = 0,95)

Показатели точности измерений	Метод	
	ВЭЖХ	ГЖХ
Среднее значение определения (%)	90	90
Стандартное отклонение (%)	17,4	7,0
Относительное стандартное отклонение (%)	7,1	4,0
Доверительный интервал (%)	+/-18,4	+/-10,9
Относительная погрешность измерения (%)	+/-20,4	+/-12,1
Нижний предел обнаружения (мг/дм^3)	0,01	0,001

2.2. Реактивы, растворы и материалы

Кломазон с содержанием д. в. 99,8 % (ФМС, США)
Азот, оч — ГОСТ 9293—79
Аммиак водный, 25 %-ный, ч — ГОСТ 1277—81
Ацетон, ч — ГОСТ 2603—79
н-Гексан, ч — ГОСТ 2603—79
Водорода пероксид, 30 %-ный водный раствор — ГОСТ 10929—77
Изопропиловый спирт, хч — ТУ 6-09-402—75
Кислота серная, хч — ГОСТ 4203—77
Кислота хлороводородная (соляная), хч — ГОСТ 3118—77
Метиловый спирт, хч — ГОСТ
Натрия гидроксид, хч, 25 %-ный водный раствор — ГОСТ 4323—77
Натрия сульфат безводный, хч — ГОСТ 1277—81
Серебра нитрат, хч — ГОСТ 1277—81
2-Феноксиметанол,ч — ТУ 6-09-3688—76
Хроматон N-AW-DMCS (0,16—0,20 мм) с 5 % SE-30, Хемапол, Чехия
Хроматон N-AW-DMCS (0,16—0,20 мм) с 1,5 OV-17 + 1,95 % QF-1, Хемапол, Чехия
Пластинки для ВЭТСХ (СССР)
Пластинки «Кизельгель 60 F-254» (ФРГ)
Пластинки «Силуфол» Чехия
Бумажные фильтры «белая лента», обеззоленные, и предварительно промытые гексаном — ТУ 6-09-2678—77

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Жидкостный хоматограф Милихром с ультрафиолетовым детектором	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 64 мм, внутренним диаметром 2 мм, заполненная Силасорбом 600, зернением 5 мкм	
Хроматограф газовый серии «Цвет» или аналогичный, снабженный детектором постоянной скорости рекомбинации (ДПР) с пределом детектирования по линдану $4 \cdot 10^{-14}$ г/см^3	
Хроматографическая колонка стеклянная, длиной 1 или 2 м, внутренним диаметром 2—3 мм	
Микрошприц типа МШ-10, вместимостью 10 мкл	ТУ 5Е2-833-024
Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Баня водяная	ТУ 64-1-2850—76
Весы аналитические типа ВЛА-200	ГОСТ 34104—80Е
Камера хроматографическая	ГОСТ 10565—74
Насос водоструйный	ГОСТ 10696—75
Облучатель ртутно-кварцевый типа ОКН-11	ТУ 64-1-1618—77
Пульверизаторы стеклянные	ГОСТ 10391—74
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М, или аналогичный	ТУ 25-11-917—76
Установка компрессорная	ТУ 64-1-2985—78
Шкаф сушильный	ТУ 64-1-1411—76Е
Воронки делительные	ГОСТ 3613—75
Колбы мерные, вместимостью 100 мл	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные, вместимостью 10, 50 мл	ГОСТ 1770—74Е
Колбы грушевидные со шлифом, вместимостью 100 мл	ГОСТ 10394—72
Колбы конические, вместимостью 100 мл	ГОСТ 22524—77,
Пробирки центрифужные, мерные	ГОСТ 25336—82Е
Пипетки, вместимостью 0,1, 1, 2, 5 и 10 мл	ГОСТ 20292—74
Воронки химические, конусные, диаметром 34—40 мм	ГОСТ 25336—82Е

2.4. Отбор проб

Отбор, хранение и подготовка проб проводятся в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утвержденными за № 2051—79 от 21.08.79.

Отобранные пробы можно хранить в холодильнике не более 5 дней. Перед анализом воду (при наличии взвеси) фильтруют через неплотный бумажный фильтр.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Метод ВЭЖХ

2.5.1.1. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают с помощью пипетки 5 мл изопропанола и 5 мл метанола, доливают до метки гексаном, перемешивают, фильтруют.

2.5.1.2. Кондиционирование колонки

Промыть колонку для ВЭЖХ смесью гексан-метанол-изопропанол (90 : 5 : 5, по объему) в течение 30 мин при скорости подачи растворителя 100 мкл/мин.

2.5.2. Метод ГЖХ. Подготовка и кондиционирование колонки

Готовую насадку (5 % SE-30 на Хроматоне N-AW-DMCS) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 250 °С в течение 10—12 ч.

2.5.3. Метод ТСХ

2.5.3.1. Приготовление проявляющих реагентов

2.5.3.1.1. Проявляющий реагентин № 1

1 г нитрата серебра растворяют в 1 мл дистиллированной воды, добавляют 10 мл 2-феноксиметанола, 190 мл ацетона, 1—2 капли пероксида водорода, раствор перемешивают и переносят в склянку из темного стекла.

2.5.3.2.2. Проявляющий реагент № 2

0,5 г нитрата серебра растворяют в 5 мл дистиллированной воды в мерной колбе на 100 мл, добавляют 10 мл 25 %-ного водного аммиака,

раствор доводят до 100 мл ацетоном, перемешивают и переносят в склянку из темного стекла.

2.5.3.2. Приготовление подвижной фазы для ТСХ

В мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 20 мл ацетона и добавляют до метки гексан, перемешивают. Смесь наливают в хроматографическую камеру слоем не более 6—8 мм за 30 мин до начала хроматографирования.

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор кломазона с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 99,8 % д. в., в гексане в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

Рабочие стандартные растворы с концентрацией 0,4; 1,0; 2,0; 4,0; 10,0; 20 и 40,0 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора кломазона соответствующим последовательным разбавлением гексаном.

Рабочие растворы хранят в холодильнике не более месяца.

2.5.5. Построение градуировочного графика

2.5.5.1. Градуировочный график А (измерение по п. 2.7.1, ВЭЖХ).

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа вводят по 5 мкл рабочего стандартного раствора кломазона с концентрацией 4,0; 10,0; 20,0 и 40 мкг/мл.

2.5.5.2. Градуировочный график В (измерение по п.2.7.2, ГЖХ).

Для построения градуировочного графика в испаритель хроматографа вводят по 5 мкл рабочего стандартного раствора кломазона с концентрацией 0,4; 1,0; 2,0; 4,0 и 10,0.

Осуществляют не менее 5 параллельных измерений. Находят среднее значение высоты хроматографического пика для каждой концентрации. Строят градуировочный график (А или В) зависимости высоты хроматографического пика в мм от концентрации кломазона в растворе в мкг/мл.

2.6. Описание определения

100 мл анализируемой пробы воды помещают в делительную воронку вместимостью 250 мл, приливают 10 мл 25 %-ного водного раствора гидроксида натрия, перемешивают и добавляют 20 мл н-гексана. Воронку встряхивают в течение 3 мин, после разделения фаз гексановый слой сливают в грушевидную колбу вместимостью 100 мл, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, помещенного в конице-

ской воронке на складчатом бумажном фильтре. Извлечение препарата из водной пробы повторяют еще дважды, используя по 20 мл н-гексана. Объединенный гексановый экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 °С почти досуха, остаток отдувают потоком воздуха или азота особой чистоты. Сухой остаток растворяют в 0,1 (ВЭЖХ, ТСХ) или 0,25 мл (ГЖХ) н-гексана и анализируют одним из хроматографических методов.

2.7. Условия хроматографирования

2.7.1. ВЭЖХ

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Милихром (Россия).

Колонка стальная длиной 64 мм, внутренним диаметром 2 мм, заполненная Силасорбом 600, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная.

Подвижная фаза: гексан-изопропанол-метанол (90 : 5 : 5, по объему).

Скорость потока элюента: 100 мкл/мин.

Рабочая длина волны: 240 нм.

Чувствительность: 0,4 ед. абсорбции на шкалу.

Объем вводимой пробы: 5 мкл.

Время выхода кломазона: около 6 мин.

Линейный диапазон детектирования: 20—200 нг.

Образцы, дающие пики, большие, чем стандартный раствор с концентрацией 40 мкг/мл, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

2.7.2. ГЖХ

Хроматограф газовый «Цвет-570» с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов.

Колонка стеклянная длиной 1 м, внутренним диаметром 3 мм, заполненная Хроматоном N-AW-DMCS с 5 % SE-30 (0,16—0,20 мм).

Рабочая шкала электрометра $64 \cdot 10^{10}$ Ом.

Скорость движения ленты самописца 200 мм/ч.

Температура термостата колонки – 190 °С

детектора – 300 °С

испарителя – 220 °С

Скорость газа-носителя (азота) – 60 мл/мин.

Объем вводимой пробы – 5 мкл.

Время выхода кломазона – 2,5 мин.

Линейный диапазон детектирования: 2—50 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/мл, разбавляют гексаном.

Для повышения точности идентификации кломазона при совместном присутствии в пробе γ-ГХЦГ, имеющего близкое время удерживания, кломазон удаляется из пробы обработкой концентрированной серной кислотой. Повторный анализ пробы позволяет установить вклад кломазона в первичный хроматографический сигнал.

2.7.3. ТСХ

Гексановый раствор в колбе, полученный по п. 2.6 количественно (или его аликвотную часть) наносят на хроматографические пластинки «Силуфол», «Кизельгель 60F-254» или Пластинки для ВЭТСХ». Рядом наносят стандартные растворы в объеме, соответствующем содержанию кломазона 1, 2, 5 и 10 мкг. Пластинку помещают в камеру для хроматографирования, содержащую смесь н-гексан – ацетон (4 : 1, по объему). После развития хроматограммы пластинку вынимают из камеры, помещают ее под тягу до испарения растворителей, затем обрабатывают одним из проявляющих реагентов и помещают под ультрафиолетовую лампу на 5 мин. Зона локализации препарата на пластинках «Силуфол», «Пластинках для ВЭТСХ» и «Кизельгель 60F-254» проявляется в виде серо-бурых пятен с величиной Rf 0, 35, 0,85 и 0,43, соответственно.

Для определения кломазона методом ТСХ можно использовать пластинки «Алюграм» и «Полиграм» (производства ФРГ). Величина Rf кломазона на этих пластинках составляет 0,37 и 0,38 , соответственно.

2.8. Обработка результатов анализа

2.8.1. Метод ВЭЖХ и ГЖХ

Содержание кломазона рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{h_{пр} \cdot V}{(K_г \cdot V_{ал} \cdot P)}, \text{ где}$$

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

V – конечный объем пробы, подготовленной для хроматографирования, мл;

$V_{ал}$ – объем аликвоты пробы, введенной в хроматограф, мкл;

P – объем пробы воды, взятой для анализа, дм^3;

$K_г$ – коэффициент градуировки прибора, рассчитанный из серии измерений стандартного раствора препарата.

2.8.2. Метод ТСХ

Количественное определение проводят путем сравнения площади и интенсивности окраски пятен анализируемой пробы и серии стандартов.

Содержание кломазона в анализируемой пробе воды Х, мг /дм^3,

$$X = \frac{C}{P}$$

С – содержание кломазона в пробе (мг), соответствующее интенсивности окраски пятна;

Р – объем пробы воды, взятой для анализа (дм^3).

3. Требования техники безопасности

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

4. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335—95. ГСИ «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

5. Разработчики

Юдина Т. В., Федорова Н. Е. (ФНЦГ им. Ф. Ф. Эрисмана)

Давидюк Е. И. (УкрНИИГИНТОКС, г. Киев); Кисенко М. А., Демченко В.Ф. (Институт медицины труда АН и АМН Украины, г. Киев).

gost.e-ecolog.ru