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 2
Часть 3
МУК 4.1.1221—4.1.1223—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.—30 с.—Вып. 2.—Ч. 3.

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (чл.-корр. РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева (проф. В. А. Калинин, к. хим. н. Довгилевич А. В.); 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, академиком РАМН Г. Г. Онищенко 16 марта 2003 г.

4. Введены с 1 июля 2003 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.23+51.21

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

Содержание

Измерение концентраций клетодима и его основных метаболитов клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1221—03 4

Измерение концентраций кломазона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы, корнеплодах моркови и клубнях картофеля методом газожидкостной хроматографии (дополнение к № 5006-89): МУК 4.1.1222—03 14

Определение остаточных количеств метрибузина в клубнях картофеля методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1223—03 23

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
16 марта 2003 г.
Дата введения – 1 июля 2003 г.

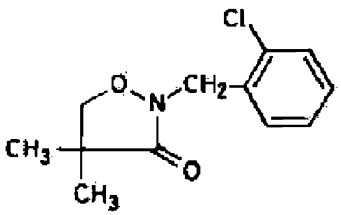
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерения концентраций кломазона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы, корнеплодах моркови и клубнях картофеля методом газожидкостной хроматографии (дополнение к № 5006-89 от 8 июня 1989 г.)

Методические указания
МУК 4.1.1222—03

1. Вводная часть

Фирма производитель: ФМС ЕВРОПА Н.В.
Торговое название: КОММАНД, ВР.
Действующее вещество: кломазон (ISO).
Действующее вещество: 2-(2-хлоробензил)-4,4-диметил-1,2-оксазолидин-3-он (IUPAC).
Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{14}ClNO_2$.
Молекулярная масса: 239,7.
Вязкая светло-коричневая жидкость с рыбным запахом.
Плотность 1,192 при 20 °С.
Давление паров при 25 °С 19,2 мПа.

Растворимость в воде 1,1 г/л.

Растворимость в органических растворителях (г/л, 20 °С): хорошо растворим в ацетоне, ацетонитриле, хлороформе, цикогексаноне, гексане, гептане, хлористом метилене, метаноле, диметилформамиде, толуоле, диоксане и других органических растворителях.

Кломазон устойчив при хранении. При комнатной температуре может храниться без потерь в течение года, при 50 °С – в течение 3 месяцев. В водных растворах период полураспада при солнечном свете более 30 дней.

Гигиенические нормативы. ВМДУ моркови, свеклы сахарной – 0,1 мг/кг.

Область применения препарата: Селективный системный гербицид, используемый для борьбы со злаковыми и некоторыми двудольными сорными растениями на посевах сои при довсходовом или предпосевном внесении с заделкой в почву, а также в смеси с другими гербицидами применяется на других культурах – рапсе, картофеле, бобовых, хлопчатнике.

2. Методика измерения концентраций кломазона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы, корнеплодах моркови и клубнях картофеля методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип методики

Методика основана на определении кломазона с помощью газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после извлечения гербицида из проб гексаном, очистке экстрактов на колонке с флорисилом и концентрировании.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых для борьбы с сорной растительностью, защиты овощных и масличных культур от вредителей и болезней (хлор- и фосфорорганические пестициды, амиды, тио- и дитиокарбаматы, синтетические пиретроиды). Избирательность метода обеспечивается очисткой экстрактов анализируемых проб, а также сочетанием селективного детектора и условиями хроматографирования.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл.

Таблица

Метрологическая характеристика метода

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %,	Доверительный интервал среднего при n = 5 и p = 0,95, %
Свекла сахарная (корнеплоды)	0,01	0,025—0,25	85	5,1	4,0
Свекла сахарная (ботва)	0,02	0,05—0,5	87	6,5	5,2
Морковь	0,01	0,025—0,25	86	6,0	4,8
Картофель	0,01	0,025—0,25	88	5,4	4,3

Минимально детектируемое количество кломазона в хроматографируемом объеме – 0,5 нг.

Граница суммарной погрешности измерения – 10 %.

Линейный динамический диапазон детектирования – 0,5—5 нг.

2.2. Реактивы, растворы и материалы

Аналитический стандарт кломазона с содержанием д.в. 99 %, (ФМС, Европа НВ)

Азот газообразный высокой чистоты ТУ 6—16—40—14—88

Бумага фильтровальная ТУ 6—091678—86

Вода дистиллированная ГОСТ 6709—72

н-Гексан, хч ТУ 2631—03—05807999—98

Гелий очищенный марки Б МРТУ 6—09—374—86

Натрий серно-кислый, безводный, чда свежепрокаленный ГОСТ 4166—76

Неподвижная жидкая фаза OV-17, Супелко Инк, США

Неподвижная жидкая фаза PS-400, Alltech Associates, Inc., США

Супелкосил (60-100 меш), Супелко Инк, США

Флориил (100-120 меш), Мерк, Германия

Хромосорб 750 зернением 100-120 меш, Serva, Германия

Этилацетат, хч ГОСТ 22300—76

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Газовый хроматограф, оснащенный термоионным детектором	
Хроматографические колонки стеклянные, длиной 2 м и внутренним диаметром 2 мм	
Аппарат для встряхивания	ТУ 6—921—1084—73
Баня водяная	ТУ 64—1—2850—76
Весы аналитические ВЛА-200 или аналогичные	ГОСТ 34104—80
Весы технические ВЛКТ-500 или аналогичные	ГОСТ 24104—80
Воронки лабораторные В-75-110	ГОСТ 25336—82
Испаритель вакуумный ротационный ИР-1М или аналогичный	ТУ 25—11917—74
Колбы круглодонные, вместимостью 50, 100, 250 и 500 мл	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные, вместимостью 250 и 500 мл	ГОСТ 25336—82
Колбы мерные, вместимостью 25, 50, 100 и 1 000 мл	ГОСТ 1770—74
Микропипетки	ГОСТ 20292—74
Микрошприц МШ-10, МШ-10М	ТУ 2—833—106
Насос стеклянный вакуумный водоструйный	ГОСТ 10696—75
Палочки стеклянные	ГОСТ 25336—82
Пипетки, вместимостью 1, 2, 5, 10 мл	ГОСТ 22292—74
Стаканы химические	ГОСТ 25336—82Е
Хроматографические стеклянные колонки, длиной 350 мм и внутренним диаметром 14 мм	
Цилиндры мерные, вместимостью 100 и 500 мл	ГОСТ 1774—74

2.4. Отбор и подготовка проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утвержденными заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 21 августа 1979 г. № 2051—79.

Для длительного хранения пробы замораживаются и хранятся при температуре –18 °С.

Корнеплоды и клубни картофеля, не размораживая, измельчают на терке, зеленую массу растений – ножницами.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и кондиционирование колонок для газожидкостной хроматографии

Готовую насадку (5 % PS-400 или 3 % OV-17 на хромосорбе 750) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и выдерживают при температуре 260 °С в течение 10—12 ч.

2.5.2. Подготовка растворителей

Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют.

Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. Для этого 100 мл растворителя испаряют при помощи вакуумного ротационного испарителя при температуре 40 °С досуха, обмывают стенки колбы 2 мл растворителя и хроматографируют полученный раствор. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

2.5.3. Приготовление растворов

Раствор гексан-этилацетат в соотношении 95 : 5 по объему. В мерную колбу на 1 л наливают 50 мл этилацетата и доводят объем до метки гексаном.

Раствор гексан-этилацетат в соотношении 90 : 10 по объему. В мерную колбу на 1 л наливают 100 мл этилацетата и доводят объем до метки гексаном.

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают 100 мг аналитического стандарта кломазона, переносят в мерную колбу объемом 100 мл, доводят объем до метки гексаном (основной стандартный раствор № 1 с концентрацией 1 мг/мл).

Методом последовательного разбавления стандартного раствора № 1 гексаном готовят рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,25, 0,5, 1, 2,5 мкг/мл, которые используются при определении степени извлечения и построения калибровочного графика.

Основные и рабочие стандартные растворы устойчивы при хранении в холодильнике при температуре 4 °С в течение трех месяцев.

2.5.5. Подготовка флорисила (супелкосила) и хроматографических колонок для очистки экстрактов

Флорисил (супелкосил) прокаливают в муфельной печи при температуре 350—400 °С в течение не менее 16 ч. Остужают в эксикаторе.

Сорбент помещают в плоскодонную колбу, добавляют 3 % дистиллированной воды (по весу) и встряхивают содержимое колбы на механическом встряхивателе в течение 2 ч. Оставляют стоять на 48 ч, периодически встряхивая содержимое колбы (2 раза в сутки по 30 мин).

В нижнюю часть колонки для очистки экстрактов помещают тампон из стекловаты. Заполняют колонку на $^1/_4$ гексаном. Навеску флорисила или супелкосила (10 г) смешивают в химическом стакане с 15—20 мл гексана. Заполняют колонку суспензией флорисила (супелкосила) в гексане. Уровень растворителя над флорисилом должен составлять 10—15 мм. Промывают колонку последовательно 30 мл этилацетата и 50 мл гексана.

Для каждой приготовленной партии флорисила (супелкосила) проверяют объем удерживания кломазона на хроматографической колонке.

2.5.6. Определение объема удерживания кломазона на хроматографической колонке

Уровень растворителя в хроматографической колонке с флорисилом понижают почти до верхнего слоя сорбента. При помощи стеклянной или автоматической пипетки вносят 1 мл раствора кломазона в гексане концентрацией 10 мкг/мл. Дают раствору впитаться, приоткрывая кран колонки и осторожно сливая растворитель, так чтобы слой растворителя над верхним краем сорбента составлял ≈ 0,3 см. Промывают колонку 100 мл смеси гексана с этилацетатом в соотношении 95 : 5. Элюат отбрасывают. Элюируют кломазон из колонки смесью гексан – этилацетат в соотношении 9 : 1 со скоростью 2 мл/мин. Отбирают фракции объемом 10 мл в мерные цилиндры на 10 мл. Всего отбирают 6—7 фракций. Из цилиндров растворы переливают в круглодонные колбы на 50 мл (каждую фракцию помещают в отдельную колбу). Каждый цилиндр ополаскивают 1—2 мл гексана, который также вносят в соответствующую колбу. Выпаривают растворитель в каждой колбе на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не более 40 °С до объема примерно 1 мл. Переносят экстракты в мерные пробирки со шлифом. Стенки колб обмывают 0,7—0,8 мл гексана, который также переносят в соответствующие пробирки. Доводят объем раствора гексана в каждой пробирке точно до 2 мл и хроматографируют. Суммарный объем фракций, в которых обнаружен кломазон, представляет собой объем растворителя, который необходим для элюирования кломазона из колонки.

2.5.7. Построение калибровочного графика

Рабочие стандартные растворы кломазона с концентрацией 0,25, 0,5, 1, 2,5 мкг/мл хроматографируют, а затем на основании данных хро-

матографирования рабочих стандартных растворов строят калибровочный график, откладывая на оси ординат площади (высоты) пиков, на оси абсцисс – концентрацию кломазона.

Осуществляют не менее 5 параллельных измерений для каждой концентрации. Находят среднее значение высоты (площади) пика для каждой концентрации. Строят градуировочный график зависимости высоты в мм (мв) или площади ($мм^2$ (мв · с) хроматографического пика от концентрации кломазона в растворе, мкг/мл.

2.5.8. Подготовка приборов и средств измерения

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения производится в соответствии с требованиями стандартов и технической документации.

2.6. Описание измерения

2.6.1. Экстракция

Навеску измельченной пробы картофеля, моркови, корнеплодов сахарной свеклы (20 г) или ботвы сахарной свеклы (10 г) помещают в коническую колбу емкостью 500 мл, добавляют в нее 100 мл гексана и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Содержимое колбы фильтруют в круглодонную колбу методом декантации через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия высотой 1—2 см. Экстракцию повторяют дважды используя 100 и 50 мл гексана. Осадок на фильтре промывают тремя порциями гексана по 20 мл. Объединенный экстракт упаривают до объема 2—3 мл на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С. Далее проводят очистку пробы на колонке с флорисилом по п. 2.6.2.

2.6.2. Очистка на колонке с флорисилом (супелкосилом)

Перед внесением пробы уровень растворителя в колонке понижают почти до верхнего края сорбента. Пипеткой количественно переносят анализируемую пробу из колбы в колонку и дают ей впитаться. Колбу ополаскивают двумя порциями гексана по 2 мл, которые также вносят в колонку. Дают раствору впитаться, приоткрывая кран колонки и осторожно сливая растворитель, так чтобы слой растворителя над верхним краем сорбента составлял ≈ 0,3 см. Промывают колонку 100 мл смеси гексана с этилацетатом в соотношении 95 : 5. Растворитель отбрасывают. Элюируют кломазон из колонки 50 мл смеси гексан – этилацетат в соотношении 9 : 1 со скоростью 2 мл/мин. Элюат собирают в круглодонную колбу на 100 мл. Выпаривают растворитель на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не более 40 °С до объема

примерно 1 мл. Переносят экстракт в мерную пробирку со шлифом. Стенки колб обмывают 0,7—0,8 мл гексана, который также переносят в пробирку. Доводят объем раствора гексана в мерной пробирке точно до 2 мл и хроматографируют по п. 2.7.

2.7. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф, снабженный термоионным детектором (PYE-UNICAM серии 200, Цвет серии 500 или аналогичные).

Основной вариант.

Носитель – хромосорб 750 (100—120 меш). Неподвижная фаза – 5 % PS-400.

Колонка стеклянная, длиной 1,8 м и внутренним диаметром 2 мм.

Газ-носитель – гелий или азот.

Скорость потока: гелий (азот) – 25 $см^3$/мин; водород – 35 $см^3$/мин; воздух – 300 $см^3$/мин.

Температура: термостата колонок 190 °С; термостата испарителя 250 °С; термостата детектора 300 °С.

Время удерживания кломазона 3,6 ± 0,1 мин.

Альтернативный вариант.

Носитель – хромосорб 750 (100—120 меш). Неподвижная фаза – 3 % OV-17.

Колонка стеклянная, длиной 2 м и внутренним диаметром 2 мм.

Скорость потока: гелий (азот) – 20 $см^3$/мин; водород – 30 $см^3$/мин; воздух – 300 $см^3$/мин. Температура: термостата колонок 190; термостата испарителя 250 °С; термостата детектора 300 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания кломазона 5,4 ± 0,2 мин.

Вводимый в хроматограф объем пробы – 2 мкл.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту пика.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией кломазона 2,5 мкг/мл разбавляют.

2.8. Обработка результатов анализа

Содержание кломазона в пробах (X_1) вычисляют по формуле:

$$X_1 = \frac{C \cdot S_1 \cdot V_1 \cdot V_3}{S_2 \cdot V_2 \cdot A}, \text{ где}$$

C – концентрация стандартного раствора кломазона, мкг/мл;

V_1 – объем анализируемой пробы, подготовленной для хроматографического анализа, мл;

V_2 – объем раствора анализируемой пробы, вводимого в хроматограф, мкл;

V_3 – объем стандартного раствора, вводимого в хроматограф, мкл;

A – масса пробы, отобранной для анализа, г;

S_1 – площадь пика кломазона в пробе (мв·с или мм^2) или высота пика (мв или мм);

S_2 – площадь пика кломазона в стандартном растворе (мв·с или мм^2) или высота пика (мв или мм).

3. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать все требования безопасности, рекомендуемые при работе с растворителями, токсичными и легковоспламеняющимися веществами, а также правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии и личной гигиены при работе в химических лабораториях.

4. Контроль погрешности измерений

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

5. Разработчики

Долженко В. И. (Всероссийский НИИ защиты растений, г. Санкт-Петербург-Пушкин), Басова Ю. Г., Сабуров Г. Г., Маслаков С. Е. (Санкт-Петербургский НИИ лесного хозяйства, г. Санкт-Петербург).

gost.e-ecolog.ru