Государственная система санитарно-эпидемиологического нормирования
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний
МУК 4.1.1802—4.1.1820—03;
4.1.1822—4.1.1826—03

Выпуск 5

Издание официальное

Москва • 2007

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ

Главный Государственный санитарный врач

Российской Федерации

Первый заместитель Министра

здравоохранения Российской Федерации

Г.Г.ОНИЩЕНКО

2003 г.

МУК 4.1.1826-03

Дата введения: с момента утверждения

1 апреля 2004 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания

по определению остаточных количеств Хлорпрофама в воде, почве и картофеле.

1.Вводная часть.

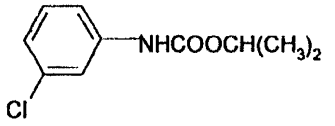
Фирма производитель: Асита Кемикал.

Торговое название: Спад-Ник, Хлор-ИФК.

Название действующего вещества по ИСО: Хлорпрофам.

Название по ИЮПАК: Изопропил 3-хлорокарбанилат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{10}H_{12}ClNO_2$.

Молекулярная масса: 213,7.

Химически чистый Хлорпрофам представляет собой бесцветный порошок.

Точка плавления: 41,4°С (чистый продукт); 38,5-40°С (технический продукт).

Растворимость в воде – 89 мг/л (при 25°С), хорошо растворим в большинстве органических растворителей: спиртах, кетонах, эфирах, хлорированных и ароматических углеводородах.

Стабилен к ультрафиолетовому излучению. Разлагается при температуре около 150°С.

Хлорпрофам относится к стойким соединениям, слабо гидролизующимся в кислой и щелочной средах, с $ДТ_{50}$ в почве до 65 дней.

Краткая токсикологическая характеристика: Хлорпрофам относится к малоопасным по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс составляет 5000-7500 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов составляет >5000 мг/кг) токсичности и чрезвычайно опасным по ингаляционной токсичности (пороговая концентрация для крыс 45 мг/м^3) веществам. Он обладает слабо выраженными кумулятивными свойствами.

В России гигиенические нормативы не установлены.

Область применения препарата: Хлорпрофам - системный гербицид и регулятор роста растений из группы карбаматов, являющийся ингибитором деления клеток (ингибитор формирования микротубул). Препарат Спад-Ник 50 на основе Хлорпрофама с содержанием действующего вещества 500 г/л проходит испытания с целью постоянной регистрации в России в качестве регулятора роста растений для применения в клубнехранилищах картофеля с максимальной нормой расхода 24 мл/т с целью предотвращения прорастания клубней.

2. Методика определения остаточных количеств Хлорпрофама в воде, почве и картофеле.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Методика основана на определении Хлорпрофама методом газожидкостной хроматографии с использованием термионного детектора после его экстракции из растительных проб ацетонитрилом, из почвы – ацетонитрилом с добавлением 0,05н хлористоводородной кислоты и очистки перэкстракцией в хлористый метилен.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании картофеля.

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
вода	0,01	0,01-0,1	83,28	1,31	2,28
почва	0,05	0,05-0,5	76,83	0,91	1,47
картофель	0,04	0,04-0,4	79,45	1,40	2,32

Таблица 2.

Доверительный интервал и полнота определения Хлорпрофама в воде, почве и картофеле.

Среда	Добавлено Хлорпрофама мг/кг	Обнаружено Хлорпрофама мг/кг	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
вода	0,01	0,009	0,0030	85,9
	0,025	0,021	0,0010	84,9
	0,05	0,041	0,0010	82,9
	0,10	0,079	0,0003	79,4
почва	0,05	0,038	0,0020	75,9
	0,10	0,077	0,0040	77,0
	0,25	0,195	0,0070	77,8
	0,50	0,383	0,0270	76,7
картофель	0,04	0,032	0,000	80,7
	0,10	0,077	0,002	77,3
	0,20	0,162	0,003	80,9
	0,40	0,316	0,005	78,9

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование.

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы.

Хлорпрофам, аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,5% фирмы Асита Кемикал.

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон, ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

Кислота соляная, ч., ГОСТ 3118-77

Метилен хлористый, ГОСТ 19433-88.

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

Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ 4233-77.

2.2.2.Приборы, аппаратура, посуда.

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

Баня водяная, ТУ 46-22-603-75.

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.

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

Колбы мерные на 10, 25, 50, 100 мл, ГОСТ 1770-74.

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

Колонки газохроматографические капиллярные кварцевые длиной 15 и 30 м, с внутренним диаметром 0,32 и 0,25 мм соответственно, толщина пленки 0,25 мкм.

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

Микрошприц на 10 мкл, ТУ Е-2.833.0.24.

Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.

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

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

Хроматограф газовый "Кристалл 2000 М" с термоионным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле - $5x10^{-13}$.

Центрифуга, МРТУ 42-219 – 69 или аналогичная.

Цилиндры мерные емкостью 25, 50 и 100 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 Хлорпрофама 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 Хлорпрофама в ацетоне с концентрацией 1; 2; 2,5; 5; 10; 20 мкг/мл для построения калибровочного графика и внесения в контрольный образец.

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 воды хранят в закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильной камере, пробы картофеля - в запаянных пластиковых пакетах в замороженном виде. Пробы почвы подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 0,1 мм; картофель измельчают на терке.

2.5. Описание определения.

2.5.1.Вода.

Образец воды 200 мл помещают в делительную воронку емкостью 500 мл, добавляют 10 г (2 чайных ложки) хлористого натрия, встряхивают до полного растворения соли. Добавляют в делительную воронку 50 мл хлористого метилена и экстрагируют Хлорпрофам, встряхивая делительную воронку 1-2 минуты. После разделения слоев нижнюю фракцию метилен хлорида сливают в концентратор через воронку с безводным сульфатом натрия. Экстракцию повторяют еще два раза порциями по 50 мл, собирая метилен хлорид в концентратор. Объединенные фракции выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при темпе-

ратуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы.

2.5.2. Почва.

Навеску почвы 40 г смачивают 20 мл 0,05 н раствором хлористоводородной кислоты, заливают 70 мл смеси ацетонитрил и 0,05 н раствора хлористоводородной кислоты (9:1) и встряхивают в течение 30 минут. По окончании встряхивания пробу центрифугируют 10 минут со скоростью 2000 об/мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу емкостью 250 мл, на дно которой предварительно помещают 10 г хлористого натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 50 мл экстрагирующей смеси, и, встряхивая пробу в течение 15 минут, центрифугируют и отфильтровывают экстракт в ту же коническую колбу.

Объединенный экстракт переносят в делительную воронку. После разделения фаз нижний водный слой осторожно сливают и отбрасывают.

Ацетонитрил из воронки сливают через слой безводного сульфата натрия в концентратор и выпаривают при температуре не выше 40°С. Остаток в концентраторе разводят в 5 мл ацетона, добавляют 50 мл дистиллированной воды, обмывают стенки концентратора и переносят его содержимое в чистую делительную воронку емкостью 250 мл. Концентратор ополаскивают еще раз 50 мл дистиллированной воды и помещают ее в ту же делительную воронку.

Добавляют в делительную воронку 5 г хлористого натрия, перемешивают содержимое для растворения соли и приливают 30 мл метилен хлорида. Экстрагируют Хлорпрофам, встряхивая воронку 1-2 минуты. После разделения слоев нижний слой метилен хлорида сливают в концентратор, пропуская через безводный сульфат натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, собирая метилен хлорид в тот же концентратор. Объединенные экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы.

2.5.3. Картофель.

Навеску измельченного материала – 50 г помещают в пластиковую банку с крышкой емкостью 250 мл и заливают 70 мл ацетонитрила. Встряхивают 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу емкостью 250 мл, на дно которой предварительно насыпают 5 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 ацетона, добавляют 50 мл дистиллированной воды, обмывают стенки концентратора и переносят его содержимое в чистую делительную воронку емкостью 250 мл. Концентратор ополаскивают еще раз 50 мл дистиллированной воды и помещают ее в ту же делительную воронку.

Добавляют в делительную воронку 5 г хлористого натрия, перемешивают содержимое для растворения соли и приливают 30 мл метилен хлорида. Экстрагируют Хлорпрофам, встряхивая воронку 1-2 минуты. После разделения слоев нижний слой метилен хлорида сливают в концентратор, пропуская через безводный сульфат натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, собирая метилен хлорид в тот же концентратор. Объединенные экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 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» с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по азоту в азобензоле $5 \cdot 10^{-13}$ г/см^3.

Колонки капиллярные кварцевые HP-5 (Crosslinked 5% PH ME Siloxane); длиной 15 м с внутренним диаметром 0,32 мм и 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм; толщина пленки 0,25 мкм.

Режим работы для колонки длиной 15 м.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 110°С, выдержка 1 минута; нагрев колонки по 30 градусов в минуту до температуры 180°С, выдержка 5 минут; нагрев колонки по 30 градусов в минуту до температуры 250°С, выдержка 5 минут.

Газовый режим – Splitless.

Газ-носитель – гелий (Г1). Тип регулятора расхода гелия – РРГ 11, линейная скорость – 21 см/сек, давление на входе 25,35 кПа.

Газ 2 (Г2) – гелий (продувка испарителя), расход 1,0 мл/мин, сброс 1:40.

Газ 3 (Г3) – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 40 мл/мин.

Продувка системы после анализа при температуре 250°С в течение 5 минут: продувка испарителя гелием – 50 мл/мин; продувка детектора азотом – 50 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Хлорпрофама – 4 мин 32 сек – 4 мин 35 сек.

Режим работы для колонки длиной 30 м.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 110°С, выдержка 1 минута; нагрев колонки по 30 градусов в минуту до температуры 190°С, выдержка 6 минут; нагрев колонки по 30 градусов в минуту до температуры 250°С, выдержка 5 минут.

Газовый режим – Splitless.

Газ-носитель – гелий (Г1). Тип регулятора расхода гелия – РРГ 11, линейная скорость – 19 см/сек, давление на входе 75,16 кПа.

Газ 2 (Г2) – гелий (продувка испарителя), расход 0,5 мл/мин, сброс 1:80.

Газ 3 (Г3) – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 40 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Хлорпрофама – 6 мин 33 сек – 6 мин 34 сек.

Продувка системы после анализа при температуре 250°С в течение 5 минут: продувка испарителя гелием – 50 мл/мин; продувка детектора азотом – 50 мл/мин.

Температура испарителя - 200°С, детектора - 350°С.

Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 1,0 – 10 нг.

2.6.2. Обработка результатов анализов.

Содержание Хлорпрофама в пробах воды, почвы и картофеля рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

где

X - содержание Хлорпрофама в пробе, мг/кг или мг/л;

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 Хлорпрофама 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. 127550, Москва, Тимирязевская ул., 53, стр. 1. УНКЦ «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов», телефон/факс 976-43-26. E-mail: gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru