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 4.1.1437—4.1.1448—03, МУК 4.1.1453—4.1.1460—03,
МУК 4.1.1467—03**

Выпуск 4

Издание официальное

Москва • 2007

gost.e-ecolog.ru

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний
МУК 4.1.1437—4.1.1448—03, МУК 4.1.1453—4.1.1460—03,
МУК 4.1.1467—03

Выпуск 4

ББК 51.21
О 37

О 37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний. Вып. 4—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.—254 с.

Настоящий сборник содержит копии оригиналов методических указаний по определению остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды.

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В.Н. Ракитский, проф. Т.В. Юдина); Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К.А. Тимирязева (проф. В.А. Калинин, к.х.н. А.В. Довгилевич); при участии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (А.П.Веселов). Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Методические указания рекомендовваны к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, академиком РАМН Г.Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ.л.16,0

Тираж 150 экз.

Тиражировано отделом информационно-издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора

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

Содержание

Определение остаточных количеств тритосульфурона в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зерне и зеленой массе кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1437—03 4

Определение остаточных количеств трифлуралина в зеленой массе и зерне зерновых культур, в семенах и масле подсолнечника, сои и рапса методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1438—03 20

Определение остаточных количеств фенпироксимата и его метаболитов в воде, почве, винограде и яблоках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1439—03 30

Измерение концентрации фенпироксимата в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1440—03 43

Измерение концентраций флуметсулама и флорасулама в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1441—03 50

Определение остаточных количеств флуметсулама и флорасулама в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1442—03 59

Определение остаточных количеств флуазифоп-П-бутил по флуазифоп-П в воде, зеленой массе растений, клубнях картофеля, зерне гороха, семенах и масле сои, подсолнечника, рапса, льна методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1443—03 77

Определение остаточных количеств флутриафола в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, винограде и яблоках методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1444—03 99

Определение остаточных количеств хлороталонила в зерне и соломе зерновых колосовых культур, винограде, яблоках, хлороталонила и его метаболита – SDS 3701 (R 182281) методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1445—03 113

Определение остаточных количеств эсфенвалерата в воде водоемов, почве, яблоках, клубнях картофеля, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1446—03 128

Измерение концентраций карбосульфана в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1447—03 139

Определение остаточных количеств диниконазола в семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1448—03 146

Измерение концентраций дикамбы в воздухе рабочей зоны газожидкостной и тонкослойной хроматографией: МУК 4.1.1453—03 153

Определению остаточных количеств имазамокса в воде, почве, зерне и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1454—03 164

Определение остаточных количеств клефоксидима в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1455—03 176

Определение остаточных количеств кломазона в воде, почве, зерне, соломе риса, семенах и масле сои хроматографическими методами: МУК 4.1.1456—03 187

Определение остаточных количеств крезоксим-метила в воде, почве, яблоках и его метаболита крезоксима в воде и почве газохроматографическим методом: МУК 4.1.1457—03 203

Определение остаточных количеств метазахлора в семенах и масле горчицы и рапса газохроматографическим методом: МУК 4.1.1458—03 215

Определение остатков пирипроксифена в воде, почве и яблоках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1459—03 223

Определение остаточных количеств тепралоксидима в воде, почве, сахарной свекле и сое методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1460—03 233

Определение остаточных количеств бромуконазола в воде, почве, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур, ягодах черной смородины и винограда методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1467—03 245

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,
Первый заместитель министра здравоохранения
Российской Федерации
Г.Г. Онищенко

24 июня 03

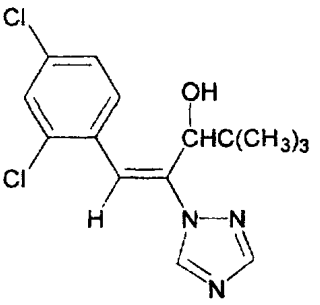
МУК 4.1. 1448-03

Дата введения:

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДИНИКОНАЗОЛА В СЕМЕНАХ И МАСЛЕ ПОДСОЛНЕЧНИКА МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.

1. Вводная часть

Фирма производитель: Август
Торговое наименование: ВИАЛ
Действующее вещество: диниконазол М (ISO).
Структурная формула:



(E)-(R) -1-(2,4-дихлорфенил)-4,4-диметил-2-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)пент-1-ен-3-ол (IUPAC).
Брутто формула: $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O$
Мол. масса: 326,2.
Химически чистый препарат - бесцветное кристаллическое вещество.
Температура плавления: 134-156°С
Давление паров при 20°С - 2,93, при 25°С – 4.9 mPa
Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 4,3 (25°С)
Растворимость в воде при 25°С – 4 мг/л;
в н-гексане – 0.7, ксилоле – 14, метаноле и ацетоне – 95 (в г/кг при 25°С).
Вещество стабильно на свету, при повышенной температуре и влажности.
Класс токсичности по ВОЗ – III, ЕПА – III.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс 639 мг/кг, дермальная › 5000 мг/кг.
В России установлены следующие гигиенические нормативы:
ПДК в воде водоемов (мг/дм^3) – 0,004,
ПДК в почве (мг/кг) – не нормирован,
МДУ в продукции (мг/кг):
Зерно хлебных злаков – 0,05.

Область применения: фунгицид для борьбы с мучнистой росой, паршой, ржавчиной и др. заболеваниями виноградной лозы, зерновых, сахарной свеклы, плодовых, овощных и масличных культур. Используется как протравитель семян на зерновых.

2. Методика определения диниконазола М в семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на извлечении диниконазола М из семян и масла подсолнечника водно-ацетоновым раствором или ацетонитрилом с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися жидкостями и на колонке с флорисилом. Количественное определение проводят методом газожидкостной хроматографии с использованием электронозахватного детектора.

2.1.2. Избирательность метода

Избирательность метода обеспечивается очисткой экстрактов анализируемых проб и сочетанием условий хроматографирования. Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Объект анализа	Предел обнаружения мг/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Среднее значение определения, % (для каждого объекта n=24)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, n=24, P=0.95
Семена	0,01	0,01 – 0,1	78.0	5.6	4.8
Масло	0,02	0,02- 0,2	79.1	6.4	5.9

Таблица 2

Полнота определения диниконазола в семенах и масле подсолнечника (N=5 для каждой концентрации)

Среда	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, S, мг/кг	Доверительный интервал, (P=0.95, n=6),%	Полнота определения, %
Семена	0,01	0.0075	$8.2 \cdot 10^{-4}$	6.01	75.0
	0,02	0.0171	$1.5 \cdot 10^{-3}$	5.23	78.3
	0,05	0.040	$3.7 \cdot 10^{-3}$	6.10	80.0
	0,1	0.079	$6.3 \cdot 10^{-3}$	5.17	78.7
Среднее					78.0
Масло	0,02	0.0165	$1.4 \cdot 10^{-3}$	6.71	82.6
	0,05	0.0375	$3.4 \cdot 10^{-3}$	6.68	75.0
	0,1	0.0797	$7.3 \cdot 10^{-3}$	6.21	79.7
	0.2	0.1583	$1.3 \cdot 10^{-2}$	6.10	79.2
Среднее					79.1

2.2. Реактивы и материалы.

Аналитический стандарт диниконазола 99.8%
Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79.
Ацетонитрил, х.ч., ТУ 6-09-3534-87.
Азот газообразный в баллонах с редуктором, ТУ-6-16-40-14-88.
Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.
Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-79.
Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98.
Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.
Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.
Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161-77.
Натрий сернокислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.
Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.
Стекловата.
Флорисил 150–250 μm (Merck, Германия), содержание воды ≤2.5%.
Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.
Хлороформ, ч.д.а., ТУ-2631-020-11291058-96.
Насадка для колонки: хроматон N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30 (Чехия).
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.
Элюент для колоночной хроматографии №1: гексан-этилацетат (50:50 по объему).
Элюент для колоночной хроматографии №2: гексан-этилацетат (20:80 по объему).

2.3. Приборы и посуда.

Газовый хроматограф Цвет-550 М или аналогичный с ДЭЗ (ДПР) и стеклянной насадочной колонкой, длиной 1м; внутренним диаметром 3 мм.
Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные.

Весы технические ВЛКТ-500, ГОСТ 24104-80.
Мельница лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.
Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836.008.
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.
Микрошприц МШ-10, МШ- 10М, ТУ 2-833-106.
Насос водоструйный, МРТУ 42 861-64.
Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС, ГОСТ 10384-72.
Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29-32 ТС, ГОСТ 10384-72.
Воронки лабораторные В-75-110, ГОСТ 25 336-82.
Воронки делительные ВД-3-500, ГОСТ 8613-75.
Цилиндры мерные на 100 $см^3$, ГОСТ 1774-74.
Колбы мерные на 25, 50, 100 $см^3$, ГОСТ 1770-74.
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$, ГОСТ 22292-74.
Стаканы химические, ГОСТ 25336-82Е.
Колонка стеклянная хроматографическая длиной 25 см, диаметром 10 мм.

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). Для длительного хранения пробы семян подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие образцы могут храниться в течение года. Перед анализом пробы семян подсолнечника измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Подготовка к определению.
2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей.

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с общепринятыми методиками. Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташем (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3). Ацетонитрил сушат над пентоксидом фосфора и перегоняют; отогнанный растворитель повторно перегоняют над углекислым калием. Этилацетат промывают равным объёмом 5%-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.2. Кондиционирование колонки.

Перед началом анализа колонку, заполненную хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30, не присоединяя к детектору, кондиционируют в токе инертного газа (азот) при температуре 250^{0}С в течение 8-10 часов.

2.5.3. Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску диниконазола (50 мг), переносят в мерную колбу на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят до метки (Стандартный раствор с концентрацией 1.0 мг/мл). Градуировочные растворы с концентрациями 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления по объему, используя для разбавления гексан. Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0–4°С в течение 6

месяцев, градуировочные растворы – в течение недели.

Для внесения в образец при определении полноты извлечения используют градуировочные растворы.

2.5.4. Построение градуировочного графика.

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация диниконазола в растворе) в хроматограф вводят по 1 мкл градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют высоты или площади пиков и строят график зависимости среднего значения высоты (площади) пика от концентрации диниконазола в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.5.5. Подготовка колонки с флорисилом для очистки экстракта.

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты и вносят суспензию 4 г флорисила в 20 мл смеси гексан:этилацетат (1:1, по объему), дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку промывают 20 мл этой же смеси со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.6. Проверка хроматографического поведения диниконазола на колонке с флорисилом.

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,5 мл стандартного раствора диниконазола с концентрацией 1 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 мл элюента №1 и вносят в колонку. Колбу обмывают еще 2 мл элюента №1 и также вносят в колонку. Затем промывают колонку 20 мл гексана и элюируют диниконазол 50 мл элюента №2 со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют на содержание диниконазола по п. 2.6.4. Фракции, содержащие диниконазол, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют по п. 2.6.4. Рассчитывают содержание диниконазола в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: профиль вымывания диниконазола может меняться при использовании новой партии сорбента.

2.5.7. Подготовка приборов и средств измерения.

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

2.6. Проведение определения

2.6.1. Экстракция диниконазола из семян подсолнечника

Навеску измельченных на лабораторной мельнице семян подсолнечника, массой 10 г помещают в коническую колбу на 250 мл, заливают 50-100 мл смеси растворителей

ацетон – вода (в соотношении 1:1) и экстрагируют диниконазол в ультразвуковой ванне в течение 15 мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр («красная лента»). Экстракцию повторяют дважды 30 мл той же смеси. Объединенный фильтрат помещают в делительную воронку и переэкстрагируют диниконазол хлороформом трижды порциями по 30 мл. Объединенные хлороформные экстракты фильтруют через слой безводного сернокислого натрия. Полученный раствор упаривают на ротационном испарителе при температуре бани 50°С до полного удаления хлороформа. Далее проводят очистку экстрактов по п.2.6.3.

2.6.2. Экстракция диниконазола из масла подсолнечника

Навеску масла 10 г растворяют в 50 мл гексана и экстрагируют диниконазол 50 мл ацетонитрила в УЗ-ванне в течение 15 мин. Полученную смесь помещают в делительную воронку объемом 250 мл. После расслоения* нижний ацетонитрильный слой сливают, из верхнего гексанового слоя экстрагируют диниконазол ацетонитрилом еще дважды порциями по 25 мл. К объединенному ацетонитрильному экстракту добавляют воду в соотношении ацетонитрил:вода = 1:4 и переэкстрагируют диниконазол хлороформом трижды порциями по 30 мл. Объединенные хлороформные экстракты сушат над безводным сернокислым натрием и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 50°С. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона и помещают в морозильную камеру с температурой -18°С на 2 часа. Охлажденный ацетоновый раствор декантируют в круглодонную колбу на 10 мл через фильтр «красная лента», после чего фильтр промывают 2 мл ацетона. Полученный раствор упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°С до полного удаления ацетона. Далее очистку проводят по п.2.6.3.

*В случае образования сравнительно стойких эмульсий можно добавить несколько мл насыщенного раствора хлористого натрия.

2.6.3. Очистка экстрактов на колонке с флорисилом

Остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.1 и 2.6.2. экстрактов семян или масла, количественно переносят двумя порциями по 2 мл смеси гексан-этилацетат (1:1, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п. 2.5.5.). Промывают колонку 20 мл гексана, которые отбрасывают. Диниконазол элюируют 50 мл элюента №2 (гексан-этилацетат=2:8). Весь элюат собирают в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 50°С. Сухой остаток растворяют в 1-2 мл гексана и 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

2.6.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Цвет-550М» с ДПР (ДЭЗ) или аналогичный.
1. Колонка стеклянная 1 м х 3 мм, заполненная хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30.
Температура колонки 230°С, испарителя 240°С, детектора 320°С
Скорость газа-носителя (азот) через колонку 45 $см^3$/мин.
Шкала электрометра $8x10^{10}$.
Объем вводимой пробы 1 мкл.
Время удерживания диниконазола 1мин 55 сек.
2. Колонка стеклянная 1 м х 3 мм, заполненная хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% XE-60.

Температура колонки 220^0С, испарителя 240^0С, детектора 320^0С
Скорость газа-носителя (азот) через колонку 45 $см^3$/мин.
Шкала электрометра $8x10^{10}$.
Объем вводимой пробы 1 мкл.
Время удерживания диниконазола 2мин 25 сек
Линейный диапазон детектирования 0.1 – 2 нг.

2.6.6. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание диниконазола в образце семян или масла (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{H_2 \times C \times V}{H_1 \times P}$$

где H_1– высота (площадь) пика диниконазола в стандартном растворе, мм;
H_2 – высота (площадь) пика диниконазола в анализируемой пробе, мм;
V – объём экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;
P – навеска анализируемого образца, г;
C – концентрация диниконазола в стандартном растворе, мкг/мл.
Содержание остаточных количеств диниконазола в анализируемом образце вычисляют как среднее из 3-х параллельных определений.
Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор диниконазола 2 мкг/мл разбавляют.

3. Требования техники безопасности.

При проведении работы необходимо соблюдать требования инструкции «Основные правила безопасной работы в химической лаборатории», общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, а также инструкции по эксплуатации газового хроматографа и электрооборудования до 400 В.

4. Разработчики.

Долженко В.И., Цибульская И.А., Блинова Т.Ф.
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР).
196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, д.3. Телефон 470-41-98.

gost.e-ecolog.ru