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 остаточных количеств метилизотиоцианата в томатах и огурцах методом газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1416—03

Вводная часть

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения в томатах и огурцах массовой концентрации метилизотиоцианата в диапазоне 0,025—0,250 мг/кг.

Метилизотиоцианат – основной метаболит дазомета, действующего вещества препарата БАЗАМИД, мг (970 г/кг), фирма-производитель БАСФ АГ, Германия.

Метилизотиоцианат (МИТЦ)

$CH_3N{=}CS$ C_2H_3NS

Молекулярная масса – 73,12.

Бесцветное кристаллическое вещество с раздражающим запахом. Температура плавления 35—36 °С. Температура кипения 119 °С. Слаборастворим в воде, хорошо растворим в органических растворителях. В воздухе находится в виде паров.

Область применения препарата БАЗАМИД, мг (970 г/кг д.в. дазомета). Препарат рекомендуется к применению в качестве фунгицида и нематоцида против нематодов, почвенных патогенных грибов, прорастающих семян сорняков и злаков, вредных насекомых и бактерий на огурцах, томатах открытого и защищенного грунта, в питомниках, на землянике.

Гигиенические нормативы метилизотиоцианата: ВМДУ в томатах и огурцах – 0,05 мг/кг.

gost.e-ecolog.ru

1. Метрологические характеристики метода

Метрологические характеристики метода представлены в табл. 1.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 24				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Томаты	0,025	0,025—0,250	81,32	3,01	±4,4
Огурцы	0,025	0,025—0,250	83,73	2,67	±3,9

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором (ТИД) после отгонки метилизотиоцианата из образца растительного материала с водяным паром, превращении в 1,3-диметилимидазолидин-тион-2-он-5 (ДИТО) при взаимодействии с этиловым эфиром саркозина, очистке на колонке с флорисилом.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в технологии возделывания томатов и огурцов.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл-2000М», снабженный термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по азоту в азобензоле $1,4 \times 10^{-11}$ г/с	ТУ 9443-001-12908609—95 Номер Госреестра 14516—95
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 50, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770
Микрошприц типа МШ-10М, вместимостью 10 $мм^3$	ТУ 2.833.105
Пипетки градуированные 2-го класса точности, вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пипетки с одной меткой 2-го класса точности, вместимостью 20 $см^3$	ГОСТ 29169
Пробирки градуированные, вместимостью 5 или 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности, вместимостью 10, 25, 50, 100, 200, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Метилизотиоцианат с содержанием действующего вещества 99,2 % (БАСФ, Германия)	
Ацетон, хч	ТУ-6-09-4326—76
Вода дистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
Бензол	ГОСТ 5955
н-Гексан, хч	ТУ-6-09-3375
Кислота соляная (хлороводородная), хч	ГОСТ 3118
Натрий углекислый кислый (гидрокарбонат), хч	ГОСТ 4201
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Саркозин этиловый эфир, гидрохлорид (фирмы «Флука», Швейцария)	
Флорисил для колоночной хроматографии 60—100 меш (фирмы «Флука», Швейцария)	
Хлороформ (трихлорметан), хч	ГОСТ 12794

Газхром Q (0,12—0,16 мм)
с 1 % Реоплекса-400 (фирмы Мерк, США)
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч ГОСТ 22300

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Баня водяная
Бумажные фильтры «красная лента»,
обеззоленные ТУ 6-09-2678—77
Воронки делительные, вместимостью
250 $см^3$ ГОСТ 25336
Воронки конусные, диаметром
30—37 и 60 мм ГОСТ 25336
Груша резиновая
Колбы плоскодонные, вместимостью
200—250 $см^3$ ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе,
вместимостью 10, 100 и 250 $см^3$ ГОСТ 9737
Колба Кьельдаля ГОСТ 25336
Насос водоструйный ГОСТ 10696
Ректификационная колонна
с числом теоретических тарелок не менее 50
Ротационный вакуумный испаритель
ИР-1М или ротационный вакуумный
испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария ТУ 25-11-917—74
Стаканы химические, вместимостью
100 и 400 $см^3$ ГОСТ 25336
Стекловата
Стеклянная колонка длиной 30 см,
внутренним диаметром 15 мм
Стеклянные палочки
Установка для перегонки растворителей
при атмосферном давлении
Установка для перегонки растворителей
с водяным паром
Хроматографическая колонка стеклянная
длиной 1,5 м, внутренним диаметром 3 мм

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

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1005.

4.2. При выполнении измерений с использованием газового хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

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

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 газовом 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 и кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с флорисилом для очистки экстрактов, проверка хроматографического поведения вещества на колонке с флорисилом.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Растворитель сушат над молекулярными ситами 4А и подвергают фракционной перегонке на ректификационной колонне, целиком собранной из стекла с числом теоретических тарелок не менее 30. Сосуд для перегонки погружают в водяную баню и через приемник пропускают медленно струю сухого азота. Затем температуру водяной бани по-

вышают до 70—75 °С и прибор промывают парами ацетона, после чего холодильник заполняют водой. До начала отбора главной фракции приемник несколько раз промывают дистиллятом. Перегонку продолжают до тех пор, пока в сосуде для перегонки не останется приблизительно 100 $см^3$ ацетона. Температуру водяной бани следует снижать по мере уменьшения объема ацетона, во всех случаях она не должна превышать температуру кипения ацетона более чем на 20°.

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.

7.1.4. Очистка хлороформа

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, водой до нейтральной реакции промывных вод, сушат над хлористым кальцием, перегоняют над свежей порцией хлористого кальция.

7.2. Приготовление 6 N соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 200—300 $см^3$ дистиллированной воды, вносят 500 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.3. Приготовление 3 %-го раствора этилацетата в бензоле

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 30 $см^3$ этилацетата, доводят бензолом до метки, тщательно перемешивают.

7.4. Приготовление 10 %-го раствора этилацетата в бензоле

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 100 $см^3$ этилацетата, доводят бензолом до метки, тщательно перемешивают.

7.5. Подготовка и кондиционирование колонки

Готовую насадку (1 % Реоплекса-400 на Газхроме Q) засыпают в стеклянную колонку, предварительно промытую последовательно этиловым спиртом, ацетоном и гексаном, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 200 °С в течение 8—10 ч.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходный раствор МИТЦ (концентрация 100 мкг/см^3)

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 0,0025 г МИТЦ, растворяют в 50—70 см^3 гексана, доводят гексаном до метки, тщательно перемешивают. Раствор готовят непосредственно перед работой.

Для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения МИТЦ из исследуемых образцов используют стандартные растворы, приготовленные на ацетоне.

7.6.2. Раствор № 1 производного МИТЦ (ДИТО) для градуировки (концентрация 5 мкг/см^3)

В круглодонную колбу вместимостью 300 см^3 помещают 5 см^3 исходного стандартного раствора МИТЦ с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.6.1), добавляют 30 см^3 дистиллированной воды, 50 см^3 хлороформа, 0,100 г гидрохлорида этилового эфира саркозина и 2,5 г гидрокарбоната натрия и выдерживают на водяной бане с обратным холодильником при 80 °С в течение 30 мин. После охлаждения содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 300 см^3, ополаскивая колбу 30—40 см^3 дистиллированной воды, которую также переносят в делительную воронку. Дают фазам расслоиться, нижний хлороформный слой отделяют, помещая его в коническую колбу. К водному раствору в делительной воронке добавляют 10 г хлорида натрия и 10 см^3 6N соляной кислоты. Вновь вносят в делительную воронку отделенный ранее хлороформный раствор. Воронку встряхивают в течение 7 мин. После разделения фаз нижний хлороформный слой отделяют, фильтруя его через слой безводного сульфата натрия (~ 2 см), помещенный на бумажном фильтре в конусной химической воронке, в круглодонную колбу вместимостью 300 см^3. К водной фазе в делительной воронке добавляют новую порцию хлороформа объемом 80 см^3, воронку вновь встряхивают 7 мин. После разделения фаз нижний хлороформный слой отделяют, фильтруя его через слой безводного сульфата натрия, в круглодонную колбу с ранее полученным экстрактом. Операцию экстракции производного МИТЦ (ДИТО) повторяют еще раз, используя порцию хлороформа объемом 60 см^3

и встряхивая делительную воронку в течение 7 мин. Пропущенный через слой безводного сульфата натрия объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 35 °С. Для удаления возможной влаги к остатку в колбе добавляют 3—4 $см^3$ бензола и вновь упаривают досуха. Сухой остаток в колбе растворяют в 100 $см^3$ бензола, получая раствор № 1 производного МИТЦ (ДИТО) с концентрацией 5 $мкг/см^3$. Раствор хранится в холодильнике не более 5 дней.

Растворы № 2—4 готовят объемным методом путем последовательного разбавления раствора № 1.

7.6.3. Рабочие растворы № 2—4 производного МИТЦ (ДИТО) для градуировки (концентрация 0,5—2,5 $мкг/см^3$)

В 3 мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают по 10, 20 и 50 $см^3$ стандартного раствора № 1 с концентрацией 5 $мкг/см^3$ (п. 7.6.2), доводят до метки бензолом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы № 2—4 с концентрацией ДИТО 0,5, 1,0 и 2,5 $мкг/см^3$, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед работой.

7.7. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (отн. единицы) от концентрации МИТЦ в растворе ($мкг/см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4 растворам для градуировки № 1—4.

В инжектор хроматографа вводят по 2 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.4. Осуществляют не менее 3 параллельных измерений.

7.8. Подготовка колонки с флорисилом для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 30 см, внутренним диаметром 15 мм уплотняют тампоном из стекловаты, помещают в колонку 5 г безводного сульфата натрия, 10 г флорисила, затем 5 г безводного сульфата натрия. Колонку промывают 25 $см^3$ 10 %-го этилацетата в бензоле (приготовленного по п. 7.4), затем 50 $см^3$ бензола со скоростью 1—2 капли в секунду. После этого колонка готова к работе.

7.9. Проверка хроматографического поведения ДИТО на колонке с флорисилом

В подготовленную по п. 7.8 колонку вносят 2 $см^3$ стандартного раствора № 1 (п. 7.6.2). Промывают колонку 50 $см^3$ 3 %-го раствора этилацетата в бензоле, элюат отбрасывают. Затем промывают колонку

100 см^3 10 %-го раствора этилацетата в бензоле со скоростью 1—2 капли в секунду. Фракционно (по 10 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 см^3 бензола, анализируют содержание производного МИТЦ по п. 9.4.

Фракции, содержащие ДИТО, объединяют вместе и вновь анализируют по п. 9.4.

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

Примечание. Проверку хроматографического поведения ДИТО следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. 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).

Отобранные пробы огурцов и томатов хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре –18 °С.

Перед анализом образцы измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция

Образец измельченных огурцов или томатов массой 50 г помещают в колбу Кьельдаля вместимостью 500 см^3, вносят 300 см^3 воды и 20 см^3 гексана, энергично перемешивают. Колбу присоединяют к установке для перегонки с водяным паром. Начинают перегонку, собирая дистиллят в круглодонную колбу вместимостью 300 см^3, содержащую 50 см^3 хлороформа. Отгоняют гексановую фракцию и около 30 см^3 воды.

Далее проводят получение производного МИТЦ (ДИТО) по п. 9.2.

9.2. Получение производного МИТЦ (ДИТО)

В колбу с дистиллятом, полученным по п. 9.1, вносят 0,100 г гидрохлорида этилового эфира саркозина и 2,5 г бикарбоната натрия и выдерживают на водяной бане с обратным холодильником при 80 °С в течение 30 мин. После охлаждения содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 300 см^3, ополаскивая колбу 30—40 см^3 дистиллированной воды, которую также переносят в делительную воронку. Дают фазам расслоиться, нижний хлороформный слой отделяют, помещая его

в коническую колбу. К водному раствору в делительной воронке добавляют 10 г хлорида натрия и 10 $см^3$ 6N соляной кислоты. Вновь вносят в делительную воронку отделенный ранее хлороформный раствор. Воронку встряхивают в течение 7 мин. После разделения фаз нижний хлороформный слой отделяют, фильтруя его через слой безводного сульфата натрия (~ 2 см), помещенный на бумажном фильтре в конусной химической воронке, в круглодонную колбу вместимостью 300 $см^3$. Операцию экстракции производного МИТЦ (ДИТО) повторяют еще дважды, используя по 80 и 60 $см^3$ хлороформа и встряхивая делительную воронку в течение 7 мин. Пропущенный через слой безводного сульфата натрия объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не более 35 °С. Для удаления возможной влаги к остатку в колбе добавляют 3—4 $см^3$ бензола и вновь упаривают досуха. Сухой остаток в колбе растворяют в 5 $см^3$ бензола и подвергают дополнительной очистке на колонке по п. 9.3.

9.3. Очистка экстракта на колонке с флорисилом

Остаток в круглодонной колбе, полученный по п. 9.2, наносят на колонку, подготовленную по п. 7.8. Колбу обмывают трижды порциями бензола по 5 $см^3$, которые также наносят на колонку. Затем промывают колонку со скоростью 1—2 капли в секунду последовательно 50 $см^3$ бензола, 50 $см^3$ 3 %-го раствора этилацетата в бензоле, элюат отбрасывают. Производное МИТЦ элюируют с колонки со скоростью 1—2 капли в секунду 50 $см^3$ 10 %-го раствора этилацетата в бензоле (объем данного элюента может быть увеличен или сокращен в соответствии с п. 7.9), собирая элюат непосредственно в колбу для упаривания вместимостью 100—200 $см^3$. Растворитель в колбе упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. Остаток растворяют в 2,5 $см^3$ бензола, анализируют содержание производного МИТЦ по п. 9.4.

9.4. Условия хроматографирования

Хроматограф газовый «Кристалл 2000 М» с термоионным детектором.

Колонка стеклянная длиной 1,5 м, внутренним диаметром 3 мм, заполненная Газхромом Q (0,12—0,16 мм) с 1 % Реоплекса-400.

Температура термостата колонки – 165 °С;
детектора – 380 °С;
испарителя – 230° С.

Скорость газа-носителя (азота) – 35 ± 1 $см^3$/мин;
водорода – 16 ± 1 $см^3$/мин;
воздуха – 200 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы – 2 мм^3.

Ориентировочное время удерживания производного МИТЦ (ДИТО) – 2 мин 10 с.

Линейный диапазон детектирования – 1—10 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор производного МИТЦ с концентрацией 5 мкг/см^3, разбавляют бензолом.

10. Обработка результатов анализа

Содержание МИТЦ в пробе рассчитывают по формуле:

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

X – содержание МИТЦ в пробе, мг/кг;

A –концентрация производного МИТЦ, найденная по градуировочному графику, мкг/см^3;

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

m – масса анализируемого образца, г.

11. 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».

12. Разработчики

Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волчек С. И, Рогачева С. К., Гарбузова А. А.

Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (ФНЦГ им. Ф. Ф. Эрисмана). 141000, г. Мытищи Московской обл., ул. Семашко, д. 2, лаборатория аналитических методов контроля.

Телефон: (495) 586-12-76

gost.e-ecolog.ru