Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 2
МУК 4.1.1430—4.1.1433—03

Москва • 2004

gost.e-ecolog.ru

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 Прометрина в зеленой массе петрушки и укропа, клубнях картофеля, корнеплодах моркови и петрушки методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1431—03

1. Вводная часть

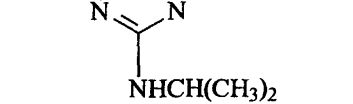
Фирма-производитель: Сингента Кроп Протекшен АГ.

Торговое название: Гезагард.

Название действующего вещества по ИСО: Прометрин.

Название действующего вещества по ИЮПАК: N^2,N^4-диизопропил-6-метилтио-1,3,5-триазин-2,4-диамин.

Структурная формула:



Эмпирическая формула $C_{10}H_{19}N_5S$. М. м. 241,4

Химически чистый Прометрин представляет собой белое кристаллическое вещество без запаха.

Давление паров 0,165 mPa.

Температура плавления 118—120 °С.

Коэффициент распределения н-октанол-вода: K_{ow} lg P_{ow} = 3,1. Растворимость в воде составляет 33,0 мг/л при 25 °С и pH 7,0.

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С): ацетон – 300,0; гексан – 6,3; этанол – 140,0; толуол – 200,0; н-октанол – 110,0.

Прометрин стабилен в водных растворах в нейтральной, слабощелочной и слабокислой среде, быстро гидролизуется сильными кислотами и щелочами.

Период полураспада в почве в полевых условиях от 14 до 158 дней (в среднем 50 дней). Основным путем разложения вещества в почве является микробиологическое деалкилирование и окисление метилтио-группы.

Краткая гигиеническая характеристика. Прометрин относится к малоопасным веществам по острой оральной ($ЛД_{50}$ крысы 5 233 мг/кг), дермальной ($ЛД_{50}$ крысы свыше 3 100 мг/кг) токсичности и умеренно опасным по ингаляционной ($ЛД_{50}$ крысы более 5 170 мг/м^3) токсичности. Может оказывать побочные неблагоприятные токсикологические эффекты.

В России установлены следующие гигиенические нормативы.

ДСД – 0,005 мг/кг/сут.

МДУ в зерне кукурузы, гороха, фасоли, чечевицы, семенах и масле подсолнечника и сои, клубнях картофеля, в тмине, кориандре и чесноке – 0,1 мг/кг.

Остаточные количества в моркови, сельдерее, укропе, петрушке не допускаются.

Область применения. Прометрин – гербицид из группы производных 1,3,5-триазина системного почвенного действия с длительным защитным эффектом, может проникать через листья растений, передвигаясь по ксилеме. Высокоэффективен против малолетних злаковых и двудольных сорняков в период их прорастания в посевах хлопчатника, зернобобовых, подсолнечника, сои, моркови и других зонтичных. Широко используется для приготовления смесевых промышленных препаратов.

Зарегистрирован под торговой маркой Гезагард - 50 в России в качестве гербицида для подавления сорняков в посевах подсолнечника, сои, зернобобовых, лекарственных кормовых бобовых куль-

тур, моркови и других зонтичных, чеснока, посадках картофеля с нормой расхода 2—5 кг/га, однократная обработка.

2. Методика определения остаточных количеств Прометрина в зеленой массе петрушки и укропа, клубнях картофеля, корнеплодах моркови и петрушки методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Прометрина методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после экстракции веществ органическим растворителем, очистки экстрактов путем перевода соединений в ионизированную форму и последующего перераспределения между двумя несмешивающимися растворителями.

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода газожидкостной хроматографии приведена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода газожидкостной хроматографии

Метрологические параметры, p = 0,95, n = 20					
анализируемый объект	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S	доверительный интервал среднего результата, % ±
Клубни картофеля, корнеплоды моркови и петрушки	0,02	0,02—0,32	91,9	4,34	91,9 ± 2,0
Зеленая масса петрушки и укропа	0,02	0,02—0,32	83,2	4,95	83,2 ± 2,3

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых для защиты овощных и плодовых культур от вредителей и болезней (хлор- и фосфорорганические пестициды, амиды, тио- и дитиокарбаматы, синтетические пиретроиды).

Таблица 2

Доверительный интервал и полнота определения Прометрина в клубнях картофеля, корнеплодах моркови и петрушки и в зеленой массе петрушки и укропа

Среда	Добавлено Прометрина, мг/кг	Обнаружено Прометрина, мг/кг	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
Клубни картофеля, корнеплоды моркови и петрушки	0,02	0,0185	0,0020	92,5
	0,04	0,0370	0,0020	91,3
	0,16	0,1440	0,0062	90,1
	0,32	0,3000	0,0140	93,7
Зеленая масса петрушки и укропа	0,02	0,0168	0,0020	84,4
	0,04	0,0330	0,0030	82,5
	0,16	0,1370	0,0091	85,6
	0,32	0,2570	0,0118	80,4

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Аналитический стандарт Прометрина с содержанием не менее 95 % д.в., фирма Сингента

Азот особой чистоты — ГОСТ 9293—74

Ацетон — ТУ 6-09-3513—86

Ацетонитрил — ТУ 6-09-3534—87

Гексан — ТУ 6-09-3375—78

Гелий, очищенный марки «А» — ТУ-51-940—80

Кислота хлороводородная, 0,1 н водный раствор

Кислота хлороводородная, концентрированная, хч — ГОСТ 3118—77

Натрий серно-кислый, безводный, хч — ГОСТ 4166—76

Натрия хлорид, насыщенный водный раствор
Натрия хлорид, хч ГОСТ 4233—77
Неподвижные фазы для газожидкостной хроматографии: SE-30, 5 % на Хроматоне-N-AW (0,16-0,20 мм) фирма Хемапол, Чехия
Флорисил для колоночной хроматографии с размером частиц 60—80 меш., фирма Мерк или аналогичный
Хлороформ, ч ГОСТ 20015—74
Этилацетат ГОСТ 22300—76
Эфир диэтиловый (для наркоза, Фармакопея СССР).

2.2.2. Посуда и оборудование

Вакуумный ротационный испаритель МР-1М ТУ 25-11-917—74
Весы аналитические ВЛА-200 или аналогичные ГОСТ 34104—80 Е
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г ГОСТ 19491—74
Водоструйный насос ГОСТ 10696—75
Воронки делительные 250, 500 мл ГОСТ 25336—82Е
Воронки для фильтрования стеклянные ГОСТ 8613—75
Встряхиватель механический ТУ 64-1-1081—73
Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 мл ГОСТ 10394—72
Колбы мерные на 25, 50 и 100 мл ГОСТ 1770—74
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая НР-5 (5 % фенилсиликона + 95 % метилсиликона), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирма Хьюлетт Пакард или аналогичная
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 2 м с внутренним диаметром 3 мм (заполненная носителем)
Концентраторы грушевидные (конические) 250 мл ГОСТ 10394—72

Микрошприц для газового хроматографа на 1—10 мкл
Пипетки мерные на 1; 2,0; 5,0; 10 мл ГОСТ 20292—74
Фильтры бумажные «красная лента» ТУ 6-09-2678—77
Хроматограф газовый «Цвет-600» или другой марки, снабженный термоионным детектором на азот
Хроматограф газовый «Кристалл 2000 м» с термоионным детектором на азот и приспособлениями для капиллярной колонки
Центрифужные банки полипропиленовые с крышками объемом 250 мл, Nalgene, cat. № 3120—0250.

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают 50 мг Прометрина в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Получают исходный стандартный раствор № 1 с концентрацией 1 мг/мл, который хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

Методом последовательного разведения готовят стандартный раствор № 2 с концентрацией Прометрина 10 мкг/мл в ацетоне, который можно хранить в холодильнике 30 дней.

2.3.2. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика из стандартного раствора № 2 готовят методом последовательного разбавления ацетоном стандартные растворы с концентрацией: 4,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25 мкг/мл. Вводят в хроматограф по 2—3 мкл каждого стандартного раствора, измеряют высоту пиков и строят график зависимости высоты пика от концентрации раствора.

2.3.3. Подготовка колонки для очистки экстракта

2.3.3.1. Подготовка колонки с Флорисилом.

В стеклянную или пластмассовую колонку длинной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно стекловату и заполняют колонку Флорисилом на высоту 10 см. На слой Флорисила насыпают слой безводного Na_2SO_4 толщиной 1,0 см. За день до очистки экстракта колонку промывают последовательно 20 мл ацетона и 10 мл гексана. После промывки колонка готова к работе.

2.3.3.2. Проверка хроматографического поведения Прометрина на колонках с Флорисилом.

При отработке методики или поступлении новой партии сорбента (Флорисил) проводят изучение поведения Прометрина на колонке.

Для этого в концентратор (или пробирку) вносят 1 мл стандартного раствора Прометрина концентрацией 4 мкг/мл, упаривают растворитель на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха или в токе теплого воздуха.

Затем растворяют Прометрин в 1мл смеси растворителей гексан : ацетон в соотношении 4 : 1 и наносят его на подготовленную, как указано выше, колонку. Промывают колонку 15 мл гексана, смыв отбрасывают. Затем пропускают через колонку 25 мл смеси гексан : этилацетат в соотношении 7 : 2, отбирая последовательно по 5 мл элюента. Каждую фракцию собирают отдельно в концентраторы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха.

Сухие остатки растворяют в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 2—3 мкл. По результатам обнаружения Прометрина в каждой фракции определяют объем смеси гексан : этилацетат, необходимой для полного вымывания Прометрина.

2.4. Отбор, хранение и доставка 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 корнеплодов и зеленой массы хранятся при температуре 0—4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживаются и хранятся при температуре –18 °С.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Клубни картофеля, корнеплоды моркови, петрушки и зеленая масса укропа и петрушки

Навеску измельченного растительного материала (корнеплоды моркови, корнеплоды петрушки, зеленая масса укропа или зеленая масса петрушки) массой 25 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, заливают 70 мл ацетонитрила и встряхивают в течение 30 мин. Экстракт отфильтровывают через воронку с бумажным фильтром в концентратор емкостью 250 мл. Экстракцию повторяют

еще 2 раза, используя каждый раз по 50 мл ацетонитрила и встряхивая смесь в течение 30 мин.

Экстракты отфильтровывают и объединяют в концентраторе. Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха. (Упаривание проводить осторожно, т. к. возможно вспенивание ацетонитрила.)

Водный остаток в концентраторе растворяют в 25 мл 0,1 н раствора соляной кислоты и фильтруют через бумажный фильтр в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор еще раз ополаскивают 25 мл 0,1 н раствора соляной кислоты и через фильтр переносят в ту же делительную воронку. Объединенный в делительной воронке раствор промывают смесью гексан : эфир в соотношении 7 : 1 по объему, 2 раза порциями по 20 мл. Сливают из делительной воронки нижний водный слой в химический стакан объемом 100 мл, а смесь гексан : эфир отбрасывают. После промывания водную фазу в стакане подщелачивают 1 н раствором едкого натрия (около 4,5 мл) до pH = 8.

Переносят полученный раствор в делительную воронку и реэкстрагируют Прометрин тремя порциями хлороформа по 20 мл каждая. Сливают из делительной воронки каждый раз нижний слой (хлороформ) в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Объединенные экстракты упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха.

Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона и вводят в хроматограф 2—3 мкл раствора. При наличии мешающих пиков в контрольных образцах экстракт очищают на колонках с Флорисилом.

2.5.2. Очистка образцов на колонке

При очистке образцов на колонке сухой остаток в концентраторе, полученный при упаривании хлороформа, растворяют в 1 мл смеси гексан : ацетон в соотношении 4 : 1 и наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 15 мл гексана и 5 мл смеси гексан : этилацетат – 7 : 2, смывы отбрасывают.

Элюируют Прометрин 15 мл смеси гексан : этилацетат (7 : 2). Элюат собирают в концентратор и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха. Сухой остаток разводят в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 2—3 мкл.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

Хроматограф «Цвет-600» с термоионным детектором по азоту.

Рабочая шкала электрометра 16 х 10^9. Скорость движения ленты самописца 10 мм/мин.

Колонка стеклянная спиральная, длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм.

Носитель Хроматон N-AW, неподвижная фаза SE-30, 5 %, размер частиц 0,20—0,25 мм.

Температура испарителя – 270 °С, термостата колонки – 190 °С, переходной камеры – 364 °С.

Газовый режим: азот – 45 мл/мин;
водород – 13 мл/мин;
воздух – 180 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Прометрина – 1 мин 16 с.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,75—12,00 нг.

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

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией Прометрина 4,0 мкг/мл соответственно, разбавляют.

2.6.1.1. Альтернативные условия хроматографирования.

Хроматограф газовый «Кристалл 2000 м» с термоионным детектором на азот.

Капиллярная кварцевая колонка HP-5 (5 % фенилсиликона + 95 % метилсиликона), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Программированная температура термостата колонки: начальная температура – 160 °С, выдержка – 2 мин; нагрев колонки по 30 °С/мин до 250 °С, выдержка 5 мин.

Температура испарителя – 260 °С;
детектора – 350 °С.

Регулятор расхода гелия – РРГ-11; режим – Splitless.

Газ 1 – гелий, линейная скорость – 20 см/с, давление на входе – 27,29 кПа.

Газ 2 – гелий (продувка испарителя), расход – 1,0 мл/мин; сброс 1 : 50.

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

Расход водорода – 15 мл/мин, воздуха – 180 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Прометрина - 4 мин 30 с.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,25—4,00 нг.

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

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией Прометрина 4,0 мкг/мл соответственно, разбавляют.

2.6.2. Обработка результатов анализов

Содержание Прометрина рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \cdot P \text{, где}$$

X – содержание Прометрина в пробе, мг/кг;

$S_{ст}$ – высота (площадь) пика стандарта, мВ;

$S_{пр}$ – высота (площадь) пика образца, мВ;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m – масса анализируемого образца, г;

P – содержание Прометрина 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, Довгилевич Е. В., канд. биол. наук, Калинина Т. С., канд. с-х. наук, Довгилевич А. В., канд. хим. наук.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976- 43-26.

gost.e-ecolog.ru