УТВЕРЖДАЮ
Главный Государственный санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель Министра
здравоохранения Российской Федерации
Г.Г. ОНИЩЕНКО
2004 г.

МУК 4.1. 1905 -04

Дата введения:

## 4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

### Методические указания по определению остаточных количеств Пиримифос-метила в ягодах и масле облепихи.

1.Вводная часть.

Фирма производитель: ООО «Сингента».

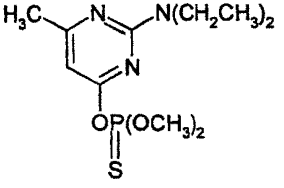
Торговое название: Актеллик.

Название действующего вещества по ИСО: Пиримифос-метил.

Название по ИЮПАК: О-2-диэтиламино-6-метилпиримидин-4-ил-О,О-диметил-фосфоротиоат.

Эмпирическая формула: $C_{11}H_{20}N_3O_3PS$.

Структурная формула:



Молекулярная масса: 305,3.

Химически чистый Пиримифос-метил представляет собой жидкость соломенного цвета.

Давление паров: 2 мПа при 20°С, 15 мПа при 30°С.

Растворимость в воде: 9,9 (pH 5,2), 8,6 (pH 7,3), 9,3 (pH 9,3) мг/л при 30°С. Хорошо растворим в большинстве органических растворителей: спиртах, кетонах, эфирах, хлорированных углеводородах.

$K_{OW}$ logP = 4.2 (20°С, не ионизированная форма).

Константа диссоциации pKa = 4.30.

Стабильность в водной среде зависит от pH ($ДТ_{50}$ – 2 – 117 дней), наиболее стоек при pH – 7,0. Фотолитически не стабилен, $ДТ_{50}$ в воде при солнечном свете менее 1 часа.

gost.e-ecolog.ru

Краткая токсикологическая характеристика: Пиримифос-метил относится к веществам малоопасным по острой оральной ($ЛД_{50}$ крысы –1414 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ кролики – более 2000 мг/кг) токсичности и умеренно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ крысы – 4 часа - более 5040 мг/м$^3$). Оказывает слабое раздражающее действие на глаза и кожу (для кроликов).

Высоко токсичен для пчел и других полезных насекомых. $СК_{50}$ для различных пород рыб: 0,64-1,4 мг/л.

В России установлены следующие гигиенические нормативы

ДСД для человека – 0,01 мг/кг/сут.

ПДК в воде водоема – 0,01 мг/дм3

ПДК в почве – 0,5 мг/кг

МДУ (мг/кг):

зерно хлебных злаков - 0,1

томаты, огурцы - 0,2;

ВМДУ (мг/кг):

горох, зерно хлебных злаков в момент обработки- 5,0

дыня, перец, баклажаны, свекла сахарная - - 0,2

брюква, турнепс, капуста, сельдерей (зелень), персики, виноград, чай - 0,5

картофель, редис, сельдерей (корень), морковь - 0,05

цитрусовые (мякоть) - 0,1

рис, табак - 1,0

В ягодах и шампиньонах остаточные количества Пиримифос-метила не допускается.

Область применения препарата: Пиримифос-метил – инсектицид и акарицид контактного и фумигационного действия из группы эфиров тиофосфорной кислоты, ингибиторов ацетилхолинэстеразы, обладающий глубинным эффектом и непродолжительным защитным действием. Высокоэффективен против сосущих, минирующих и грызущих насекомых, а также подвижных стадий клещей.

Зарегистрирован в России под торговым названием Актеллик, к.э. (500 г/л), для применения на пшенице и рисе, горохе, сахарной свекле, картофеле, кормовых бобовых, овощных и бахчевых культурах открытого и защищенного грунта, на плантациях винограда, ягодных, лекарственных и декоративных культур с нормой расхода препарата от 0,3 - 5,0 л/га (до 3-х обработок за сезон).

## 2. Методика определения остаточных количеств Пиримифос-метила в ягодах и масле облепихи.

### 2.1. Основные положения.

#### 2.1.1. Принцип метода.

Методика основана на определении Пиримифос-метила методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после его экстракции из растительных проб ацетонитрилом, переэкстракции в гексан и очистки на колонках с Флоризилом.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

#### 2.1.2. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании выше упомянутых культур.

#### 2.1.3.Метрологическая характеристика метода.

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1-3.

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 |
| ягоды | 0,05 | 0,05-0,5 | 80,63 | 1,33 | 2,24 |
| масло | 0,10 | 0,10-1,0 | 75,1, | 1,29 | 2,03 |

Таблица 2.

Доверительный интервал и полнота определения Пиримифос-метила в ягодах и масле облепихи.

| Среда | Добавлено Пиримифос-метила, мг/кг. | Обнаружено Пиримифос-метила, мг/кг | Доверительный интервал, ± | Полнота определения, % |
|---|---|---|---|---|
| ягоды | 0,05 | 0,041 | 0,004 | 81,6 |
| | 0,1 | 0,080 | 0,005 | 80,1 |
| | 0,2 | 0,159 | 0,017 | 79,3 |
| | 0,5 | 0,407 | 0,021 | 81,5 |
| масло | 0,1 | 0,076 | 0,008 | 76,2 |
| | 0,2 | 0,146 | 0,006 | 72,9 |
| | 0,4 | 0,304 | 0,026 | 76,1 |
| | 1,0 | 0,751 | 0,036 | 75,1 |

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование.

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы.

Пиримифос-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,6%.

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон, ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ 4233-77.

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

Флоризил для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш, фирмы Флюка

Эфир диэтиловый, х.ч., ГОСТ 6225-74.

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 мл, ГОСТ 23336-82.

Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

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

Колбы конические плоскодонные на 250 мл, КПШ-250 ГОСТ 10394-72.

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

Колонки пластиковые для адсорбционной хроматографии длиной 15 см, диаметр 1,5 см.

Колонка газохроматографическая капиллярная кварцевая DB-1701 длиной 15 м, с внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Концентраторы грушевидные на 100 и 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.

Стаканы химические на 100 мл, ГОСТ 25336-82 Е.

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

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

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 Пиримифос-метила 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 Пиримифос-метила в ацетоне с концентрацией 0,25; 0,5; 1,0; 2,5 мкг/мл для построения калибровочного графика и внесения в контрольный образец.

Подобным образом готовят раствор Пиримифос-метила в гексане с концентрацией 1,0 мкг/мл для проверки хроматографического поведения аналитического стандарта на колонке с Флоризилом.

2.3.3. Подготовка колонки с Флоризилом.

В пластмассовую колонку длиной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно чистую стекловату и заполняют колонку 5 г Флоризила 60/100 меш, уплотняя его путем вибрации колонки. На слой Флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. За день до определения Флоризил в колонке промывают 20 мл смеси гексан:эфир – 1:1, а в день определения – 10 мл гексана.

2.3.4. Проверка хроматографического поведения Пиримифос-метила на колонке.

В подготовленную колонку вносят 1 мл стандартного раствора Пиримифос-метила в гексане с концентрацией 1,0 мкг/мл (раздел 2.3.2) и 4 мл гексана. Колонку промывают 5 мл гексана. Смыв отбрасывают. После этого пропускают через колонку 4-5 порций смеси гексан:эфир (1:1) по 5 мл каждая, собирая их в отдельные концентраторы. Собранные фракции выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы. Фракции, содержащие Пиримифос-метил, объединяют, выпаривают досуха. Сухой остаток вновь растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смыва с колонки и необходимый для очистки объем элюата.

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 ягод облепихи хранят в запаянных пластиковых пакетах в замороженном виде, пробы масла хранят в плотно закрытой стеклянной или пластиковой таре в холодильнике.

2.5. Описание определения.

2.5.1.Ягоды.

Навеску измельченного материала – 10 г помещают в пластиковую банку с крышкой емкостью 250 мл и заливают 50 мл ацетонитрила. Встряхивают 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в концентратор емкостью 250 мл. Экстракцию повторяют еще два раза, заливая пробу 30 мл ацетонитрила, и, встряхивая каждый раз по 15 минут. Экстракты отфильтровывают в тот же концентратор. Объединенный фильтрат упаривают до объема 5-10 мл при температуре не выше 40°С.

Остаток разводят 100 мл 2% водного раствора хлористого натрия, обмывают стенки концентратора и переносят его содержимое в делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют в делительную воронку 30 мл гексана и экстрагируют Пиримифос-метил, встряхивая

воронку 1-2 минуты. После разделения слоев нижний водный слой сливают в стакан, а верхний гексановый слой собирают в чистый концентратор, пропуская через безводный сульфат натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз 30 мл гексана, и собирая гексан в тот же концентратор. Объединенные экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток в концентраторе растворяют в 5 мл гексана и проводят очистку пробы на колонке с Флоризилом.

2.5.1.1. Очистка на колонках с Флоризилом.

В подготовленную (как указано в разделе 2.3.3) колонку с Флоризилом переносят содержимое концентратора. Концентратор ополаскивают 5 мл гексана и пропускают гексан через колонку. Смыв отбрасывают. Пиримифос-метил элюируют 15 мл смеси гексан:эфир – 1:1. Экстракт собирают в чистый концентратор и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе. Сухой остаток разводят в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы.

2.5.2. Масло.

Навеску масла 5 г помещают в стеклянный стакан емкостью 100 мл и разводят в 50 мл гексана. Содержимое стакана переносят в делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют в воронку 100 мл ацетонитрила, подогретого до температуры 40°С, и встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой сливают в коническую колбу, а верхний слой оставляют в делительной воронке. Добавляют туда 50 мл подогретого ацетонитрила и встряхивают 2 минуты. Ацетонитрильный экстракт сливают в ту же колбу. Экстракцию повторяют еще раз с тем же объемом ацетонитрила.

Объединенный ацетонитрильный экстракт переносят в чистую делительную воронку, добавляют туда 30 мл гексана и промывают ацетонитрил, встряхивая воронку 1-2 минуты. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отфильтровывают в концентратор через безводный сульфат натрия. Гексановую фракцию промывают 25 мл ацетонитрила, ацетонитрил сливают в тот же концентратор. Гексан отбрасывают. Объединенный ацетонитрильный экстракт выпаривают досуха.

Сухой остаток в концентраторе разводят в 5 мл гексана и переносят на колонку с Флоризилом. Далее проводят очистку пробы на колонке, как указано в разделе 2.5.1.1. Очищенную пробу 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$^3$ или аналогичный.

Колонка капиллярная кварцевая DB-1701; длиной 15 м с внутренним диаметром 0,32 мм; толщина пленки 0,25 мкм.

Режим работы.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 160°С, выдержка 2 минуты; нагрев колонки по 15 градусов в минуту до температуры 230°С, выдержка 5 минут; нагрев колонки по 30 градусов в минуту до температуры 250°С.

Газовый режим – Split less.

Газ-носитель – гелий (Г1). Тип регулятора расхода гелия – РРГ 11, линейная скорость – 21 см/сек, давление на входе 28,66 кПа.

Газ 2 (Г2) – гелий (продувка испарителя), расход 1,0 мл/мин, сброс 1:30.

Газ 3 (Г3) – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 35 мл/мин.

Продувка системы после анализа при температуре 250°С в течение 3 минут: продувка испарителя гелием –55 мл/мин; продувка детектора азотом – 55 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Пиримифос-метила – 6 мин 41 сек.

Температура испарителя - 260°С, детектора - 350°С.

Расход водорода – 15 мл/мин; расход воздуха – 180 мл/мин.

Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,25-2,5 нг.

2.6.2. Обработка результатов анализов.

Содержание Пиримифос-метила в пробах ягод и масла облепихи рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание Пиримифос-метила в пробе, мг/кг;

$H_1$ - 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 Пиримифос-метила 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.

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