ГОСУДАРСТВЕННОЕ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СБОРНИК

МЕТОДИЧЕСКИХ ДОКУМЕНТОВ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКОНА ОТ 12.06.08 №88-ФЗ

«Технический регламент на молоко и молочную продукцию»

Часть 13

МОСКВА 2010

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Сборник методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию»

Часть 13

ББК 51.23
С23

С23 **Сборник** методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию».—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.—78 с.

ISBN 5—7508—0771—1

В сборник включены методические документы, содержащие правила и методы исследований (испытаний) и измерений, а также правила отбора образцов для проведения исследований (испытаний) и измерений, в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г. Г. Онищенко от 08.12.2008 № 67.

ББК 51.23

© Роспотребнадзор, 2010
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

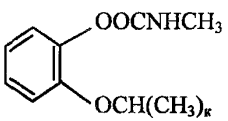
УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Главного
государственного
санитарного врача СССР
А. И. ЗАИЧЕНКО
22 октября 1981 г.
№ 2477-81

Временные методические указания по определению байгона методом газожидкостной хроматографии в молоке

1. Краткая характеристика пестицида

Байгон (больфо, пропоксур, тропоксилур, блаттанекс, Байер 390071) -2-изопропоксифенил-N-метилкарбамат.

Структурная формула



Эмпирическая формула $C_{11}H_{15}O_3N$. Молекулярная масса 209,25. Белое кристаллическое вещество с темп. плавления 91,5 °С. Хорошо растворим в низкомолекулярных спиртах, кетонах, хлорсодержащих и циклических углеводородах и воде (до 0,02 %).

Гидролизуется в кислой и щелочной среде. При метаболизме и гидролизе более бояев токсичных соединений не образует. $ЛД_{50}$ для крыс 100 мг/кг. Применяется в животноводстве для борьбы с кровососущими насекомыми и защите растений. ДОК в молоке не установлены.

2. Методика определения байгона в молоке методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении байгона из молока ацетоном, очистке в тонком слое силикагеля, бронировании выделенного пестицида и газо-

хроматографическом определении с применением детектора постоянной скорости рекомбинации.

2.1.2. Метрологическая характеристика

Диапазон определяемых концентраций – 0,003—3,30 мг/л. Предел обнаружения – 0,06 мкг в пробе или 0,003 мг/л. Процент определения для концентраций 0,01; 0,02; 1,8 мг/л (при $p = 0,96$ и $n = 10$) 68,3 ± 12,8; 68,2 ± 10,5; 72,1 ± 8,9 % соответственно.

2.1.3. Избирательность метода

Определению байгона не мешают пестициды, применяемые в настоящее время в животноводстве, защите растений или рекомендуемые для широких испытаний.

2.2. Реактивы и материалы

Азот газообразный, N, особой чистоты	ГОСТ 9293—74
Ацетон	ГОСТ 2603—79
Больфо – 20 %-ный эмульгирующийся концентрат (э.к.) байгона или 50 %-ный смачивающийся порошок (с.п.) байгона (страны СЭВ)	
Бром, Br, х.ч.	ГОСТ 4109—79
Гексан,	ТУ 6-09-3375—78
Диэтиловый эфир, $(C_2B_5)_2O$, фарм.	ГОСТ 6262—79
Натрий сернокислый безводный, Na_2SO_4, ч.д.а.	ГОСТ 4166—76
Пластинки «Силуфол» (5 × 15 см) для ТСХ {страны СЭВ – ЧССР}	
Хроматон N-AN зернением 0,200—0,250 мм, пропитанный 5 % силикона с SE-30 для хроматографии	

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф Цвет-106 с детектором постоянной скорости рекомбинации или аналогичный
Колонка хроматографическая стеклянная (1 000 × 3 мм}, заполненная хроматоном N-AW с 5 % SE-30
Испаритель ротационный вакуумный
Прибор для встряхивания
Центрифуга рефрежираторкая типа ЦПР-1
Весы аналитические типа ВЛА-200г-К

Бюретки на 2 и 20 мл с ценой деления 0,01 мл
Бюксы стеклянные с притёртой пробкой на 5 мл
Воронки делительные на 50 мл
Капилляры стеклянные с запаянным концом
длиной 12—15 см
Колбы мерные с притёртой пробкой на 100 мл
Пипетки на 1,5 и 10 мл
Стаканы химические на 150—200 мл
Фильтры бумажные широкопористые
Шприцы на 1 мл и 10 мкл

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Получение кристаллического байгона и его очистка

Кристаллический байгон с содержанием 99 % основного вещества получают из препарата «Больфо» (20 %-ный эмульгирующийся концентрат) и 50 %-ного смачивающегося порошка.

2.4.1.1. Получение кристаллического байгона из препарата «Больфо».

В стакан вносят препарат «Больфо» и дистиллированную воду в объёмном соотношении 1 : 2. Содержимое перемешивают и оставляют на 4—5 минут. Жидкость отфильтровывают через широкопористый бумажный фильтр. Кристаллы байгона на фильтре промывают дистиллированной водой до исчезновения буроватого оттенка (4—5 раз полностью заливая кристаллы). Кристаллы переносят в чистый стакан (остатки кристаллов на фильтре смывают водой). Приливают в стакан дистиллированную воду из расчета 5 мл на 1 г кристаллов. Осторожно перемешивают содержимое стеклянной палочкой. Кристаллам дают осесть. Воду сливают, а в стакан для удаления влаги вдувают сухой чистый воздух или азот в течение 2—3 часов. Затем полностью заливают кристаллы байгона химически чистым гексаном. Покачивая стакан, осторожно перемешивают содержимое в течение 5—7 минут. После оседания кристаллов гексан сливают. Промывку кристаллов гексаном повторяют 3 раза. Для удаления остатков гексана в стакан вдувают сухой чистый воздух или азот в течение 1 часа. Проверяют температуру плавления, которая должна быть в пределах 91—91,5 °С. Полученный кристаллический байгон хранят в герметически закрытых стеклянных банках.

2.4.1.2. Получение кристаллического байгона из 50 %-ного смачивающегося порошка.

В центрифужную пробирку на 250 мл засыпают 20—25 г смачивающегося порошка и заливают 60—75 мл ацетона. Для растворения бай-

гона содержимое тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Затем осаждают взвешенные частицы центрифугированием в течение 5 минут при 1 000 оборотах в минуту. Ацетоновый раствор сливают в стакан. К осадку в пробирке приливают 25 мл ацетона и перемешивают стеклянной палочкой. Центрифугируют при ранее описанных условиях, надосадочную жиджосгь сливают в тот же стакан. Для выделения кристаллов байгона и его ацетоновому раствору приливают 200 мл дистиллированной воды. Жидкость отфильтровывают через широкопористый бумажный фильтр. Очистку оставшихся на фильтре кристаллов проводят так же, как полученных иаз эмульгирующего концентрата («Больфо»). Проверяют температуру плавления.

2.4.2. Приготовление стандартных растворов

2.4.2.1. Основной раствор.

В мерной колбе на 100 мл с притёртой пробкой взвешивают несколько кристалликов байгона (40—50 мг) с точностью 0,0002 г. Приливают в колбу 30—40 мл ацетона. Растворяют соединение, а затем доливают растворитель до метки. Колбу закрывают пробкой и тщательно перемешивают. Раствор (основной) хранят в холодильнике при температуре не выше плюс 3 °С. При хорошей герметичности закрывания колбы срок хранения раствора – до 60 суток.

2.4.2.2. Рабочий раствор.

Рассчитывант объём основного раствора, содержащего 500 мкг байгона. Это количество основного раствора с точностью 0,005 мл вносят в мерную колбу на 100 мл с притёртой пробкой. Доливают ацетон до метки и тщательно перемешивают содержимое. Срок хранения в условях холодильника до 60 суток.

2.4.2.3. Стандартные растворы.

С помощью бюретки вносят в мерные колбы на 100 мл с притёртыми пробками 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 12 и 16 мл рабочего раствора, доливают ацетон в каждую колбу до метки. Содержимое тщательно перемешивают. Получают растворы с концентрацией 50, 100, 200, 400, 600 и 800 нг/мл. Готовят три серии таких стандартных растворов. При ежедневном использовании растворов срок хранения – не более 10 дней.

2.4.3. Построение градунроночного графика

В бюксы вносят по 1 мл каждого стандартного раствора. Растворитель досуха испаряют, вдувая в бюксы сухой чистый воздух или азот. Проводят бромирование байгона (см. раздел 2.5.2). Бромнированный байгон растворяют, добавляя в каждый бюкс по 1 мл ацетона. Вводят в

хроматограф дважды по 2 мкл этого раствора из каждого бюкса и измеряют высоту пика. Находят среднее значение по шести измерениям высоты пика для каждой дозы. Строят кривую зависимости высоты пика от количества нонаграммов байгона, введённых в хроматограф.

2.4.4. Кондиционирование газохроматографической колонки

Вновь приготовленную колонку продувают азотом особой чистоты (50 мл/мин) при температуре 240 °С в течение 6 часов.

2.4.5. Подготовка пластинок «Силуфол»

Пластинки «Силуфол» (20 штук) помещают в сосуд с крышкой и заливают 200 мл ацетона. Выдерживают при периодическом покачивании сосуда в течение 18 часов. Пластинки высушивают в шкафу при температуре 90 °С. Хранят в герметически закрытых ёмкостях.

2.4.6. Смеси растворителей

Для анализа готовят смесь гексана с ацетоном в объёмном соотношении 5 : 7 и смесь гексана с диэтиловым эфиром в объёмном соотношении 1 : 9.

2.4.7. Отбор проб

Отбор проб проводят в соответствии с унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов, утверждённых Заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 21 августа 1979 г. за № 2051-79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция и очистка экстракта

К пробе молока (20 мл) в центрифужной пробирке приливают 60 мл ацетона. Содержимое осторожно перемешивают стеклянной палочкой и центрифугируют в течение 5 минут (скорость вращения ротора 2 000 оборотов в минуту) при температуре минус 7,6—8,5 °С. Экстракт сливают. При необходимости фильтруют через широкопористый бумажный фильтр. Ацетон из экстракта отгоняют в ротационном вакуумном испарителе при температуре 40 ± 1 °С и давлении 200—300 мм рт. ст. в течение 4—5 минут*.

---

* Ацетон можно испарить, вдувая в выпарительную чашку или колбу с экстрактом чистый воздух или азот.

Водный остаток переносят в делительную воронку, приливают 10 мл смеси диэтилового эфира с гексаном (9 : 1) и встряхивают содержимое 1 минуту (60—80 встряхиваний). Слоям дают разделиться. Нижний слой сливают и отбрасывают. К эфиргексановому экстракту добавляют 0,6—0,7 г безводного сульфата натрия и оставляют на 5 минут, периодически помешивая содержимое. Обезвоженный экстракт сливают в коническую центрифужную пробирку, в которую затем помещают капилляр, запаянный в верхней части. Нижнюю часть пробирки опускают в водяную баню. Растворители испаряют при кипении (при 40—45 °С) до объема 0,5—0,7 мл. Остаток с помощью шприца или пипетки наносят на пластину «Силуфол» полосой (не превышающей по ширине 8 мм) по линии старта (15—20 мм от края пластинки). Пробирку обмывают 0,2—0,3 мл диэтилового эфира, который так же переносят на пластинку. После подсыхания растворителей, пластинку помещают в хроматографическую камеру, на дне которой предварительно наливают смесь гексана с ацетоном (5 : 7) слоем 5—7 мм. Хроматографирование проводят при температуре (20 ± 1) °С, когда растворители поднимутся по тонкому слою, не достигая 8—10 мм верхнего края пластинки, последнюю извлекают из камеры. R_f байгона при этих условиях хроматографирования составляет 0,75. Основываясь на этом расстригают полосу пластинки шириной 19—20 мм с зоной локализации пестицида. Центральная линия этой полосы должна соответствовать центральной линии зоны локализации пестицида, рассчитанной на основании R_f (см. рис.). Полосу пластинки с байгоном расстригают на кусочки площадью 0,4—0,6 $см^2$, помещают в бюкс и заливают 3 мл ацетона. Бюкс закрывают крышкой и выдерживают в течение 30 мин при периодическом взбалтывании содержимого. Затем ацетоновый раствор отфильтровывают в чистый бюкс. Растворитель досуха испаряют, вдувая в бюкс сухой чистый воздух или ацетон.

2.5.2. Бромирование байгона

Бюкс заполняют парами брома, «наливая» последние из склянки с высокими плечиками, на дне которой имеется небольшое количество (5—6 мг) жидкого брома. При этом не допускают попадания в бюкс жидкого брома. Бюкс закрывают крышкой и помещают в холодильную камеру при температуре минус 5—8 °С. Через 2 ч бюкс извлекают. Избыток паров брома удаляют кратковременным продуванием бюкса сухим чистым воздухом или азотом. В бюкс наливают 2 мл ацетона. Пока-

чивая бюкс, обмывают его внутреннюю поверхность. В хроматограф вводят 2—4 мкл этого раствора.

2.5.3. Условия хроматографирования

Хроматограф Цвет-106 с детектором постоянной скорости рекомбинации. Скорость протяжки ленты самописца 200 мм/ч. Рабочая шкала электрометра $1 \cdot 10^{-10}$. Длина колонки 1,0 м, внутренний диаметр 3 мм. Колонка заполнена хроматоном N-AW зернением 0,200—0,250 мм с 5 % силикона SE-30. Температурные режимы: испаритель 250, колонка 200, детектор 20 °С. Скорость потока газа-носителя (азота) через колонку – 35 мл/мин, детектор – 75 мл/мин. Время удерживания бромированного байгона мин. ВЭТТ – 0,8 мм. Линейность детектирования соблюдается в пределах от 0,05 до 2,8 нг байгона.

Примечание: Если высота пика занимает более 75 % ширины бумаги самописца, допускается разбавление бромированного байгона.

2.6. Обработка результатов анализа

Содержание (*С*) байгона в анализируемой пробе (мг/л) находят по формуле:

$$C_{байгона} = \frac{H_p \cdot C_{ст} \cdot V \cdot 100}{H_{ст} \cdot V_a \cdot P \cdot K}, \text{ где}$$

H_p – высота пика анализируемой пробы в мм;
$H_{ст}$ – высота пика стандарта в мм;
$C_{ст}$ – содержание пестицида в стандарте в нг;
V – объём раствора, из которого отбирают аликвоту для инъекции в мл;
V_a – объём раствора аликвоты, которую вводят в хроматограф в мкл;
P – навеска анализируемого образца в мл;
K – процент определения.

3. Требования безопасности

Все работы с бромом проводятся в резиновых перчатках в вытяжном шкафу с хорошей тягой. При этом необходимо иметь наготове противогаз марки В. Соблюдаются требования безопасности обычно рекомендуемые при работе с легковоспламеняющимися растворителями, взрывоопасными газами и высокотоксичными соединениями.

Настоящие методические указания разработаны С. М. Тихомировым (ВНИИ ветеринарной энтомологии и арахнологии, г. Темень).

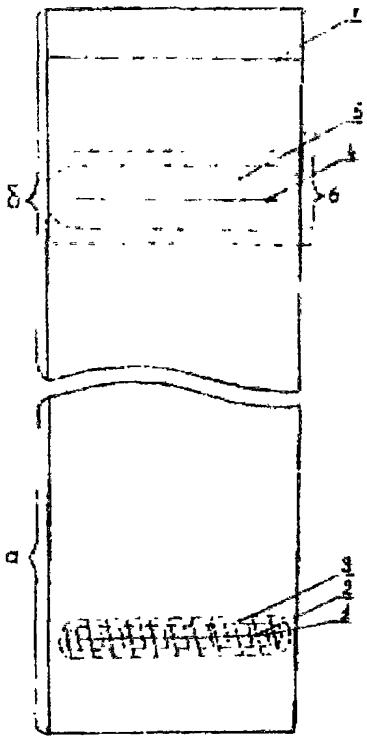


Рис. Локализация байгона на линии старта (а) пластинки «Силуфол» и после хроматографического разделения (б).

1. Линия старта. 2. Зона локализации байгона на старте.
3. Зона растекания растворителя. 4. Центральная линия зоны локализации байгона после разделения. 5. Зона локализации байгона после разделения.
6. Полоса пластинки, выстригаемая для последующего элюирования байгона.
7. Линия финиша подвижной фазы.

Содержание

Временные методические указания по определению байгона методом газожидкостной хроматографии в молоке.....3
Методические указания по определению дифоса (аббата) в продуктах животного происхождения методом тонкослойной хроматографии (дополнение к № 1350-75).....11
Методические указания по избирательному газохроматографическому определению хлорорганических пестицидов в биологических средах (моче, крови, жировой ткани и грудном женском молоке).....16
Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания Т-2 токсина в пищевых продуктах и продовольственном сырье.....26
Унифицированная методика определения остаточных количеств фосфорорганических пестицидов.....33

Сборник методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию»

Часть 13

Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 26.01.10

Формат 60x88/16 Печ. л. 5,0

Тираж 200 экз. Заказ 1

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru