Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2062—4.1.2074—06

Издание официальное

Москва, 2009

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О37

О37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 — 147с.

1. Сборник подготовлен Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); при участии специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 9,25

Тираж 100 экз.

Тиражировано отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

Содержание

1. Методические указания по определению остаточных количеств пиридабена в воде, почве и яблоках методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2062-06.....4
2. Методические указания по определению остаточных количеств триасульфурона в зерне хлебных злаков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2063-06.....15
3. Методические указания по определению остаточных количеств хизалофоп-п-этила в зерне гороха, семенах и масле подсолнечника по основному метаболиту хизалофоп-п кислоте методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2064-06.....22
4. Методические указания по определению остаточных количеств Калиевой соли сульфометурон-метила по сульфометурон-метилу в воде и почве методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2065-06.....33
5. Методические указания по определению остаточных количеств тебуконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2067-06.....45
6. Методические указания по определению остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в масле сои методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2066-06.....52
7. Методические указания по определению остаточных количеств Пендиметалина в зерне зерновых колосовых культур, риса, кукурузы, растительных маслах, зеленой массе кукурузы, рисовой соломке методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2068-06.....63
8. Методические указания по определению остаточных количеств дитианона в винограде, виноградном соке, персиках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2069-06.....77
9. Методические указания по определению остаточных количеств Диквата в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2070-06.....88
10. Методические указания по определению остаточных количеств Трифорина в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2071-06.....99
11. Методические указания по определению остаточных количеств бифентрина в воде, огурцах, томатах и бифентрина и малатиона в зерне пшеницы и риса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2072-06.....109
12. Методические указания по измерению концентраций дикамбы в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2073-06...125
13. Методические указания по измерению концентраций Бромадиолона в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2074-06.....136

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия
человека, Главный государственный
санитарный врач Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

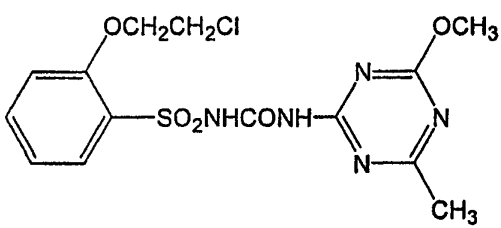
« 5 » мая 2006 г.

МУК 4.1.2063-06
Дата введения: с 1 июня 2006.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ТРИАСУЛЬФУРОНА В ЗЕРНЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1. *Вводная часть*

Торговое наименование: Дукат.
Фирма регистрант: ООО НПП «Агрусхим».
Действующее вещество: триасульфурон.
Структурная формула:



1-[2-(2-хлорэтокси)фенилсульфонил]-3-(6-метил-4-метокси-1,3,5-триазин-2-ил)мочевина (IUPAC).
2-(2-хлорэтокси)-[[(6-метил-4-метокси-1,3,5-триазин-2-ил)амино]карбонил]бензолсульфонамид (CA).
Мол. масса: 401,8
Брутто формула: $C_{14}H_{16}ClN_5O_5S$
Химически чистый триасульфурон представляет собой белый порошок с температурой плавления 178,1°C, давлением паров $<2x10^{-3}$ мРа (25°C).
Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} lgP=1.1 (pH 5), -0.59 (pH 7), -1.8 (pH 9) (25°C).
Растворимость (г/дм^3): в воде 0,032 (pH 5), 0.815 (pH 7), 13,5 (pH 8,4) при 25°C; дихлорметане – 36, ацетоне – 14, этилацетате – 4.3, этаноле – 0.42, толуоле – 0.3, н-октаноле – 0.13, гексане – 0.00004 (25°C).
Стабилен на воздухе до 140°C, в нейтральных и щелочных растворах при 25°C.
Группа токсичности по ЕПА – IV, ВОЗ – U; Острая пероральная токсичность LD_{50} для крыс и мышей >5000 мг/кг. Дермальная токсичность для крыс >2000 мг/кг.

Область применения: селективный гербицид, адсорбируется листьями, корнями и быстро попадает в меристему. Используется для контроля широколиственных сорняков на зерновых. Гигиенические нормативы для триасульфурона в России: МДУ в зерне хлебных злаков – 0.1 мг/кг.

2. Методика определения триасульфурона в зерне хлебных злаков методом ВЭЖХ

2.1. Основные положения

2.1.1. Область применения и принцип метода

Настоящий документ устанавливает методику определения остаточных количеств триасульфурона в пробах зерна хлебных злаков в диапазоне концентраций 0.01 - 0.1 мг/кг. Методика основана на определении триасульфурона методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов водно-ацетоновой смесью с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями и на колонке с силикагелем.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Диапазон определяемых концентраций 0.01 - 0.1 мг/кг.
Нижний предел определения триасульфурона в зерне 0.01 мг/кг.
Полнота определения 80 % (коэффициент извлечения К=0.8),
Границы суммарной относительной погрешности результата измерений Δ ±12% при доверительной вероятности Р=0.95 (n = 20).
Полнота определения триасульфурона в зерне зерновых колосовых культур (N = 5 для каждой концентрации):

Среда	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, ±	Полнота определения, %
1	2	3	4	5
Зерно	0.01	0.0079	0.00069	79.0
	0.025	0.0202	0.0017	80.7
	0.05	0.0396	0.0033	79.2
	0.10	0.0828	0.0075	82.8
Среднее				80.4

2.1.3. Избирательность метода

Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения определению не мешает.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, осч, ТУ 6-09-3513-86.
Ацетонитрил для ВЭЖХ, "В-230НМ" или х.ч., ТУ 6-09-3534-87.
Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.
Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 6709-79.
Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.

Калий фосфорнокислый 2-замещенный, 3-водный, чда, ГОСТ 2493-75.
Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.
Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161–77.
Кислота ортофосфорная, имп. (Ferak, Германия) или хч, ГОСТ 6552-80; 2М и 0.005М водные растворы.
Кислота серная, х.ч., ГОСТ 4204-77.
Трибенурон-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,2% (Sigma–Aldrich).
Натрий двууглекислый, ГОСТ 83–79.
Натрий сернокислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.
Натрия гидроксид, хч., ГОСТ 4328-77.
н-Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98, свежеперегнанный.
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил – 0,01М H_3PO_4 (35:65, по объему).
Силикагель для колоночной хроматографии 60 (0.040–0.063 mm) (Merck, Германия).
Стекловата.
Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.
Элюент №1 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (50:50, по объему).
Элюент №2 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (10:90, по объему).
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.

2.3. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф LC-10A фирмы Shimadzu с УФ детектором (SPD-10A) или другой с аналогичными характеристиками.
Аналитическая колонка Supelcosil C-18 (150 x 4,6) мм, 5 мкм (Sigma-Aldrich).
Предколонка Supelcosil C-18.
Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 24104-2001 или аналогичные.
Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836.008.
Мельница лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.
Бидистиллятор.
РН-метр универсальный ЭВ-74, ГОСТ 22261-76.
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, 250 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1774-74.
Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1770-74.
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$, ГОСТ 22292-74.
Колонки стеклянные (25×1) см.
Допускается применять другие вспомогательное оборудование, материалы и реактивы с техническими и метрологическими характеристиками не хуже указанных.

2.4. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ Р 50436-92 (ИСО 950-79) «Зерновые. Отбор проб зерна». Пробы зерна для определения остатков в урожае хранят в бумажной или тканевой упаковке при комнатной температуре. Перед анализом зерно доводят до стандартной влажности и измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 $см^3$ растворителя упаривают в ротационном испарителе при температуре 40^0С до объема 1,0 $см^3$ и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с типовыми методиками. Гексан и хлористый метилен встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции кислоты, затем промывают водой, 2%-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют. Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 $дм^3$ 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 (Supelcosil C-18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 $см^3$/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1–2 часов.

2.5.3. Приготовление растворов

Для приготовления 2М раствора ортофосфорной кислоты 200 г 98% (или 225 г 87%) кристаллической H_3PO_4 помещают в мерную колбу объемом 1 $дм^3$, растворяют в 600 $см^3$ дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Для приготовления 0.01М раствора ортофосфорной кислоты 5.0 $см^3$ 2М раствора H_3PO_4 вносят в мерную колбу на 1 $дм^3$ и доводят до метки деионизированным бидистиллятом.

Для приготовления 0.2М раствора K_2HPO_4 45.6 г кристаллического калия фосфорнокислого двузамещенного трехводного помещают в мерную колбу на 1 $дм^3$, растворяют при перемешивании в 600 $см^3$ дистиллированной воды и доводят объем раствора до метки.

Для получения 50%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 $дм^3$ смешивают 500 $см^3$ ацетона с 500 $см^3$ дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с 0.01М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 35:65 по объему, используя мерные цилиндры.

Для приготовления элюента №1 в колбе на 1000 $см^3$ смешивают 500 $см^3$ н-гексана и 500 $см^3$ этилацетата. Для приготовления элюента №2 в колбе на 1000 $см^3$ смешивают 100 $см^3$ н-гексана и 900 $см^3$ этилацетата.

Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску триасульфурона (50 мг), переносят в мерную колбу на 100 $см^3$, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки. (Стандартный раствор с концентрацией 0.5 мг/ $см^3$). Градуировочные растворы с концентрациями 0.2, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/$см^3$ готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы – смесь ацетонитрил – 0.01М ортофосфорная кислота (35:65, по объему).

Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0-4°С в течение 1 месяца, градуировочные растворы - в течение суток.

При изучении полноты определения триасульфурона используют ацетонитрильные растворы вещества. Растворы внесения с концентрациями 0.2 и 2.0 мкг/$см^3$ готовят из стандартного раствора с концентрацией 0.5 мг/$см^3$ методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

2.5.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика - концентрация триасульфурона в растворе) в хроматограф вводят по 20 мм^3 градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций). Затем измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации триасульфурона в градуировочном растворе (мкг/см^3).

2.5.5. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 30 см^3 смеси гексан – этилацетат (50: 50, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 50 см^3 элюента №2 и 50 см^3 элюента №1 со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.6. Проверка хроматографического поведения триасульфурона на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 см^3 отбирают 0,1 см^3 стандартного раствора триасульфурона с концентрацией 10 мкг/см^3. Отдувают растворитель током теплого воздуха (температура не выше 40°С), остаток растворяют в 5 см^3 элюента №1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 см^3 элюента №1 и также вносят на колонку. Промывают колонку 50 см^3 элюента №1, затем 100 см^3 элюента №2 со скоростью 1–2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 см^3 каждая, упаривают, остаток растворяют в 1 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.3.) и анализируют на содержание триасульфурона по п. 2.6.3.

Фракции, содержащие триасульфурон, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 1 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.6.3. Рассчитывают содержание триасульфурона в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: параметры удерживания триасульфурона и сопутствующих коэкстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Определение триасульфурона в зерне

Навеску размолотого на лабораторной мельнице зерна массой 20 г помещают в коническую колбу емкостью 250 см^3 и экстрагируют триасульфурон 50 см^3 смеси ацетон-вода (1:1, по объёму) на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Экстракцию повторяют дважды порциями по 50 см^3, выдерживая в ультразвуковой ванне каждый раз в течение 15 мин. Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°С до полного удаления ацетона. Объём водного остатка доводят до 100 см^3 дистиллированной водой, добавляют к нему 50 см^3 0.2М раствора K_2HPO_4.

Внимание! Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.

Объединённый водный экстракт промывают в делительной воронке объёмом 500 см^3 дважды гексаном порциями по 50 см^3 (верхний органический слой отбрасывают) и дважды этилацетатом порциями по 50 см^3 (верхний органический слой отбрасывают), встряхивая

каждый раз делительную воронку в течение 2–3 мин. Водную фазу подкисляют 2М ортофосфорной кислотой до pH 3 и триасульфурон экстрагируют этилацетатом трижды по 30 $см^3$, встряхивая воронку каждый раз по 2–3 мин*. Нижний водный слой отбрасывают. Объединенную органическую фазу фильтруют через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10–15 $см^3$ этилацетата. Полученный раствор выпаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.2**.

* В случае образования сравнительно стойких эмульсий для сокращения времени расслоения можно добавить в делительную воронку: на стадии промывки экстрактов гексаном – небольшое количество (до 10 $см^3$) этилового спирта.

** В случаях, когда очистка экстрактов контрольных проб (п.2.6.1.) дает удовлетворительные результаты дополнительную очистку на колонке с силикагелем можно исключить.

2.6.2. Очистка на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.1. экстрактов зерна, количественно переносят двумя порциями по 5 $см^3$ смеси гексан – этилацетат (50:50, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п.2.5.5.). Промывают колонку 50 $см^3$ элюента №1, которые отбрасывают. Триасульфурон элюируют 80 $см^3$ элюента №2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 250 $см^3$. Раствор выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 $мм^3$ раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.3. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф LC-10A фирмы Shimadzu с УФ детектором (SPD-10A) или другой с аналогичными характеристиками.
Рабочая длина волны 223 нм.
Колонка Supelcosil C-18 (150 x 4.6) мм, 5 мкм (Sigma-Aldrich).
Предколонка Waters Symmetry C-18 для защиты аналитической колонки.
Температура колонки 30±1°С.
Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.01М раствор H_3PO_4 в соотношении 35:65 (по объему).
Скорость потока элюента: 1 $см^3$/мин.
Время удерживания триасульфурона 8.3 ± 0.1 мин.

2.6.4. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки, содержание триасульфурона в образце зерна (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P \cdot K},$$

где S_1- площадь пика триасульфурона в стандартном растворе, мм;
S_2- площадь пика триасульфурона в анализируемой пробе, мм;
V - объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, $см^3$;
P - навеска анализируемого образца, г;
C - концентрация стандартного раствора триасульфурона, мкг/ $см^3$;

К - коэффициент извлечения, определяемый в эксперименте по внесению стандартного раствора триасульфурона в контрольный образец зерна.
Содержание остаточных количеств триасульфурона в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2-х параллельных определений.
Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор триасульфурона 2 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

3. Оформление результатов измерений

Результаты измерений содержания триасульфурона в образцах зерна представляют в виде:

$$(X \pm \Delta)\ \text{мг/кг},$$

где Δ – показатель точности результатов анализа (границы, в которых погрешность любого из совокупности результатов анализа, полученных при реализации методики, находится с принятой вероятностью P=0.95).

4. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005-88).
При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа и работе с электроустановками соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкциями по эксплуатации приборов.
Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91.

5. Требования к квалификации оператора

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист-химик, имеющий опыт работы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, ознакомленный с руководством по эксплуатации жидкостного хроматографа, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений по п.6.

6. Контроль погрешности измерений.

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости результатов измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-1-6. 2002 "Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений".

7. Разработчики

Долженко В.И., Цибульская И.А., Юзихин О.С. (ВНИИ защиты растений, Санкт-Петербург).

gost.e-ecolog.ru