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 4.1.2138—4.1.2151—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.—146с.**

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 60х88/16 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 измерению концентраций 2,4-Д в атмосферном воздухе населенных мест методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2138-06.....4
2. Методические указания индоксакарба в воздухе рабочей зоны методом капиллярной газожидкостной хроматографии МУК 4.1.2139-06.....14
3. Методические указания по определению остаточных количеств бромадиолона в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2140-06 23
4. Методические указания по измерению концентраций манкоцеба в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2141-06....34
5. Методические указания по измерению концентраций металаксила в воздухе рабочей зоны, смывах с кожных покровов операторов и атмосферном воздухе населенных мест методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2142-06.....45
6. Методические указания по измерению концентраций МЦПА в атмосферном воздухе населенных мест методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2143-06.....56
7. Газохроматогрофическое определение 1-метоксипропан-2-ол ацетата в атмосферном воздухе. МУК 4.1. 2144-06.....65
8. Фотометрическое определение натрия перкарбоната в атмосферном воздухе. МУК 4.1. 2145-06.....77
9. Методические указания по газохроматографическому определению концентраций 1,1 диметилгидразина в почве. МУК 4.1. 2146-06.....85
10. Методические указания по измерению концентраций хлорсульфурона в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1. 2147-06.....94
11. Методические указания по измерению концентраций проквиназида в воздухе рабочей зоны методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1. 2148-06.....106
12. Методические указания по определению остаточных количеств пропаргита в воде методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1. 2149-06.....114
13. Методические указания по измерению концентраций цимоксанила в воздухе рабочей зоны, смывах с кожных покровов операторов и в атмосферном воздухе населенных мест методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1. 2150-06.....126
14. Методические указания по измерению концентраций метомила в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2151-06.....138

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

Г.Г. Онищенко

МУК 4.1.2[illegible]

«4» декабря 2006 г.

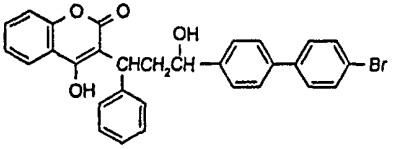
Дата введения: 1 [illegible] 2007г.

Методические указания
по определению остаточных количеств бромадиолона в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации бромадиолона в воде в диапазоне 0,0005 - 0,01 мг/дм^3.

Бромадиолона - действующее вещество препарата БРОМ-БД, концентрат (2,5 г/кг);
фирма ООО "Валбрента Кемикалс"

3-[3-(4'-Бромбифенил-4-ил)-3-гидрокси-1-фенилпропил]-4-гидроксикумарин
(IUPAC)



$C_{30}H_{23}BrO_4$

Мол. масса 524,4

Смесь двух диастереоизомеров.

Бромадиолон - белое порошкообразное вещество без запаха (технический продукт бледно желтый). Температура плавления 200-210^{0}C (смесь диастереоизомеров). Давление паров при 20^{0}C - 0,002 мПа. Растворимость в органических растворителях при 20^{0}C (в г/дм^3): диметилформамид - 730; этилацетат – 25; этанол – 8,2. Растворим в ацетоне, слабо растворим в хлороформе, практически не растворим в диэтиловом эфире и гексане. Растворимость в воде (при 20^{0}C) - 19

мг/дм^3. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{OW} log P = 3,5. Термически стабилен до 200^{0}С.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 1,125 мг/кг; мышей – 1,75 мг/кг; кроликов - 1,00 мг/кг; кошек - > 25 мг/кг; собак – > 10,0 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов 1,71 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) - 0,43 мг/дм^3.

Область применения препарата

Бромадиолон – родентицид антикоагулянтного типа класса кумаринов, предназначенный для приготовления отравленных пищевых приманок для борьбы с вредными полевыми и домашними грызунами внутри жилых и нежилых помещений. Является антикоагулянтом второго поколения с отсроченным сроком действия.

Выпускается в виде 0,25% концентрата.

Рекомендуемая ПДК в воде водоемов 0,001 мг/дм^3.

1. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и её составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P=0,95 не превышает значений, приведенных в таблице 1, для соответствующих диапазонов концентраций.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (дм^3)	Показатель точности (граница относительной погрешности), ±δ, % P=0,95	Стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
Вода	от 0,01 до 0,001 вкл.	100	3,7	10	13
	менее 0,001 до 0,0005	150	4,2	12	15

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата для полного диапазона концентраций (n = 20) приведены в таблице 2.

Таблица 2

Полнота извлечения вещества, стандартное отклонение, доверительный интервал среднего результата

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20				
	Предел обнаружения, мг/дм^3	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, ±, %
Вода	0,0005	0,0005 – 0,01	83,1	3,7	2,0

1. Метод измерений

Метод основан на определении вещества с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором. Для концентрирования и очистки проб воды использованы патроны для твердофазной экстракции Sep Pak C18.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Waters, США)	Номер в Государственном реестре средств измерений 15311-02
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 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 см^3	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 см^3	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 250 и 1000 см^3	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Бромадиолон технический с содержанием основного вещества не менее 98,1% (фирмы ООО «Валбрента Кемикалс»)	
Вода деионизованная	ГОСТ 6702
Кислота орто-фосфорная, хч, 85%	ГОСТ 6552
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Баня ультразвуковая фирмы Донау (Швейцария)	
Бумажные фильтры «красная лента», обеззоленные или фильтры из хроматографической бумаги Ватман 3ММ	ТУ 6-09-2678-77
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9773
Колбы плоскодонные вместимостью 100, 250, 400–500 $см^3$	ГОСТ 9737
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Насос водоструйный вакуумный	ГОСТ 10696
Стаканы химические, вместимостью 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Патроны для твердофазной экстракции Sep Pak C18 Cartridges (фирмы Waters, США)	
Установка для перегонки растворителей	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Symmetry® C18, зернением 5 мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50 – 100 $мм^3$	

Шприцы медицинские с разъемом Льюера вместимостью 5 и 20 $см^3$ ГОСТ 22090

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно-допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда - по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

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

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20\pm5)^0$С и относительной влажности не более 80%.
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка метанола перегонкой с дефлегматором (при необходимости), приготовление раствора ортофосфорной кислоты, градуировочных растворов, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка концентрирующих патронов Sep Pak C18.

7.1. Приготовление 0,02 М раствора орто-фосфорной кислоты

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 1,36 $см^3$ 85%-ной орто-фосфорной кислоты, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

7.2. Подготовка концентрирующего патрона Sep Pak C18

Концентрирующий патрон промывают с помощью медицинского шприца 2 $см^3$ метанола со скоростью прохождения растворителя через патрон 1-2 капли в сек., затем 5 $см^3$ деионизованной воды. Патрон готовят непосредственно перед использованием для концентрирования образца.

7.3. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 170 $см^3$ бидистиллированной или деионизированной воды, 1,0 $см^3$ орто-фосфорной кислоты, 830 $см^3$ метанола, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.4. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (приготовленной по п. 7.3) при скорости подачи растворителя 1,0 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

7.5. Приготовление градуировочных растворов и раствора внесения

7.5.1. Исходный раствор бромадиолона для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,0100 г бромадиолона, добавляют 50-70 $см^3$ метанола, помещают на ультразвуковую баню на 1 мин для растворения, доводят метанолом до метки, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3-х месяцев.

Растворы № 1-6 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

7.5.2. Раствор № 1 бромадиолона для градуировки и внесения (концентрация 5 мкг/$см^3$) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 5 $см^3$ исходного градуировочного раствора бромадиолона с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п. 7.5.1.), разбавляют метанолом до метки, перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

Раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено-найдено», а также контроле качества результатов измерений методом добавок.

7.5.3. Рабочие растворы № 2 – 6 бромадиолона для градуировки (концентрация 0.025 – 0.5 мкг/см^3)

В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 градуировочного раствора №1 с концентрацией 5 мкг/см^3 (п. 7.5.2.), доводят до метки подвижной фазой для ВЭЖХ (подготовленной по п. 7.3.), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией бромадиолона 0.025, 0.05, 0.1, 0.25 и 0.5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике в течение 2-х недель.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость суммы площадей пиков диастереоизомеров бромадиолона (отн. единицы) от концентрации вещества в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 5-ти растворам для градуировки №№ 2 - 6.

В инжектор хроматографа вводят по 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают сумму площадей пиков диастереоизомеров действующего вещества.

Градуировочный график проверяют ежедневно по анализу 2-х растворов для градуировки различной концентрации. Если значения суммы площадей отличаются более чем на 11% от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие растворы для градуировки.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79).

Пробы воды анализируют в день отбора, при необходимости хранят в холодильнике при температуре 4-6^{0}С в течение 3-х недель. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в полиэтиленовой таре в морозильной камере при температуре –18^{0}С.

Перед анализом образцы воды фильтруют через неплотный бумажный фильтр.

9. Выполнение определения

9.1. Концентрирование и очистка пробы

Образец отфильтрованной воды объемом 200 $см^3$, помещенный в химический стакан вместимостью 250-300 $см^3$, вносят с помощью медицинского шприца на концентрирующий патрон Sep Pak C18, подготовленный по п. 7.2. со скоростью пропускания раствора 1-2 капли в сек. После завершения концентрирования пробы патрон промывают последовательно тремя порциями по 5 $см^3$ смеси вода-метанол в следующем объемном соотношении - 9:1, затем 7:3 и 1:1, далее 5 $см^3$ смеси метанол-0,02 М орто-фосфорная кислота (1:1, по объему), элюаты отбрасывают. Вещество элюируют с патрона 4 $см^3$ подвижной фазы, приготовленной по п. 7.3, собирая элюат в градуированную пробирку с пришлифованной пробкой, перемешивают и анализируют на содержание бромадиолона по п. 9.2.

9.2. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

Жидкостной хроматограф «Breeze» с ультрафиолетовым детектором (фирма Waters, США)

Хроматографическая колонка стальная, длиной 150 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Symmetry® C18, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: метанол-вода-орто-фосфорная кислота (83:17:0,1, по объему)

Скорость потока элюента: 1,0 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 280 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Ориентировочное время выхода бромадиолона (2 диастереоизомера):

7,2 мин.

7,56 мин (основной пик)

Образцы, дающие пики, большие, чем градуировочный раствор бромадиолона с концентрацией 0.5 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ (подготовленной по п. 7.3.).

10. Обработка результатов анализа

Содержание бромадиолона в пробе воды (X, мг/$дм^3$) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A * V}{W}, \text{ где}$$

A - концентрация бромадиолона, найденная по градуировочному графику в соответствии с суммой площадей пиков диастереоизомеров, мкг/см^3;

V - объем раствора, подготовленного для хроматографирования, см^3;

W - объем анализируемого образца воды, см^3.

11. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (1):

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le r \qquad (1)$$

где X_1, X_2- результаты параллельных определений, мг/дм^3;

r- значение предела повторяемости (таблица 1), при этом $r = 2.8\sigma_r$.

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12. Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$$(\overline{X} \pm \Delta) \text{ мг/дм}^3 \text{ при вероятности } P = 0.95,$$

где $\overline{X}$- среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/дм^3;

Δ- граница абсолютной погрешности, мг/дм^3;

$$\Delta = \delta * X / 100,$$

δ - граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, таблица 1), %.

В случае если содержание компонента менее нижней границы диапазона определяемых концентраций, результат анализа представляют в виде:

*«содержание вещества в пробе менее 0.0005 мг/дм^3»**

** - 0.0005 мг/дм^3 - предел обнаружения.*

13. Контроль качества результатов измерений

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

13.1. Стабильность результатов измерений контролируют перед проведением измерений, анализируя один из градуировочных растворов.

13.2. Плановый внутрилабораторный оперативный контроль процедуры выполнения анализа проводится методом добавок.

Величина добавки $C_д$ должна удовлетворять условию:

$$C_д = \Delta_{л,\overline{X}} + \Delta_{л,\overline{X'}},$$

где $\pm \Delta_{л,\overline{X}} (\pm \Delta_{л,\overline{X'}})$ – характеристика погрешности (абсолютная погрешность) результатов анализа, соответствующая содержанию компонента в испытуемом образце (расчетному значению содержания компонента в образце с добавкой соответственно) мг/дм^3, при этом:

$\Delta_л = \pm 0{,}84\ \Delta$,

где Δ- граница абсолютной погрешности, мг/дм^3;

$\Delta = \delta * X / 100$,

δ- граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, таблица 1), %.

Результат контроля процедуры $К_к$ рассчитывают по формуле:

$$К_к = \overline{X'} - \overline{X} - C_д,$$

где $\overline{X'}$, $\overline{X}$, $C_д$ среднее арифметическое результатов параллельных определений (признанных приемлемыми по п.11) содержания компонента в образце с добавкой, испытуемом образце, концентрация добавки, соответственно, мг/дм^3;

Норматив контроля К рассчитывают по формуле

$$К = \sqrt{\Delta^2_{л,\overline{X'}} + \Delta^2_{л,\overline{X}}}$$

Проводят сопоставление результата контроля процедуры ($К_к$) с нормативом контроля (К).

Если результат контроля процедуры удовлетворяет условию

$$|К_к| \le К, \qquad (2)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (2) процедуру контроля повторяют. При повторном невыполнении условия (2) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.3. *Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях* воспроизводимости:

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости (R)

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{(X_1 + X_2)} \le R \qquad (3)$$

где X_1, X_2 – результаты измерений в двух разных лабораториях, мг/дм^3;

R – *предел воспроизводимости (в соответствии с диапазоном концентраций,* таблица 1), %.

12. Разработчики.

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана).

gost.e-ecolog.ru