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 4.1.1941—4.1.1954—05

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.—140 с.

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. 8.75

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

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

18 января 2005 г.

МУК 4.1. 1953-05

Дата введения: 19.01.05

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ХИЗАЛОФОП-П-ЭТИЛА В РЕПКАХ ЛУКА, КОРНЕПЛОДАХ МОРКОВИ И КОЧАНАХ КАПУСТЫ ПО ОСНОВНОМУ МЕТАБОЛИТУ ХИЗАЛОФОП-П КИСЛОТЕ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОЙ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1. Вводная часть.

1.1. Краткая характеристика препарата.

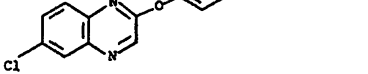
Фирма производитель: ЗАО Фирма "Август".

Торговое название: Миура, КЭ.

Действующее вещество (д.в.): хизалофоп-П-этил.

Название д.в. по номенклатуре ИЮПАК: (R)-2-[6-хлорхиноксалин-2-илокси)феноксиj пропионовой кислоты этиловый эфир.

Структурная формула д.в.:



Эмпирическая формула д.в.: $C_{19}H_{17}ClN_2O_4$.

Молекулярная масса д.в.: 372,8.

Химически чистое вещество: светло-коричневые кристаллы.

Температура плавления д.в.: 76-77^{0}С.

Давление паров д.в. при 20^{0}С: 0,011 мПа.

Растворимость д.в. (г/л) при 20^{0}С: в воде - 0,0004, в гексане – 5,0 , этаноле – 22, ксилоле – 360, ацетоне – 650.

Стабильность д.в.: устойчив к действию света, разлагается до хизалофоп-П кислоты под действием разбавленных кислот и щелочей.

1.2. Краткая токсикологическая характеристика д.в.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 1180-1210 мг/кг, для мышей – 1750-1800 мг/кг. Не оказывает раздражающего действия на кожу.

Гигиенические нормативы: ПДК в воде водоемов санитарно-бытового пользования – 0,0001 мг/дм^3, ОДК в почве – 0,8 мг/кг, МДУ в свекле сахарной, моркови, луке и капусте – 0,05 мг/кг, МДУ в свекле столовой – 0,01 мг/кг, ВМДУ в картофеле, томатах, сое (семена, масло) – 0,05 мг/кг.

1.3. Область применения препарата.

Миура, КЭ - гербицид для борьбы с однолетними и многолетними злаковыми сорными растениями.

2. Метод определения хизалофоп-П-этила в репках лука, корнеплодах моркови и кочанах капусты по основному метаболиту хизалофоп-П кислоте с применением капиллярной газожидкостной хроматографии.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на количественном определении хизалофоп-П кислоты, основного метаболита хизалофоп-П-этила, и включает извлечение остаточных количеств хизалофоп-П кислоты из анализируемого объекта органическими растворителями, очистку экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и метилирование хизалофоп-П кислоты диазометаном. Количественное определение проводят методом внешнего стандарта с применением капиллярной газожидкостной хроматографии и термионного детектора (ТИД).

2.1.2. Избирательность метода.

Метод специфичен в присутствии других применяемых в сельском хозяйстве пестицидов. Способ очистки экстрактов, а также применение селективного детектора позволяет устранять влияние коэкстрактивных веществ на результаты анализа.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода.

Диапазоны измеряемых концентраций, пределы обнаружения и другие метрологические параметры метода представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Метрологическая характеристика метода.

Анализируемые объекты	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, %
Репки лука	0,025	0,025-0,2	85,7	4,5	4,9
Корнеплоды моркови	0,025	0,025-0,2	84,1	4,3	5,5
Кочаны капусты	0,025	0,025-0,2	86,1	3,9	4,7

Таблица 2.

Полнота определения хизалофоп-П кислоты в модельных пробах (n=6)

Анализируемые объекты	Внесено, мг/кг	Извлечено, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Репки лука	0,025 0,05 0,1 0,2	79,7 84,5 87,6 90,8	± 5,8 ± 5,1 ± 4,6 ± 4,1
Корнеплоды моркови	0,025 0,05 0,1 0,2	78,8 82,3 85,7 89,5	± 6,3 ± 5,8 ± 5,2 ± 4,7
Кочаны капусты	0,025 0,05 0,1 0,2	80,3 84,6 87,8 91,5	± 5,4 ± 4,9 ± 4,5 ± 3,9

2.2. Реактивы, растворы, материалы.

Аналитический стандарт хизалофоп-П кислоты.

Азот газообразный высокой чистоты, ТУ 301-07-25-89.

Ацетон, осч, ТУ 2633-004-11291058-94.

Вата медицинская, ТУ 9393-001-00302238-97.

Вода дистиллированная и перегнанная над $KMnO_4$ и щелочью.

Водород газообразный высокой чистоты, ТУ 301-07-27-90.

н-Гексан, хч, ТУ 6-09-3375-78.

Гелий газообразный (сжатый) очищенный марки "А", ТУ 51-940-80.

Дихлорметан, хч, ТУ 6-09-2662-77.

Изооктан эталонный, ГОСТ 12433-83.

Калия гидроокись, чда, ГОСТ 24363-80.

Натрий сернокислый б/в (сульфат), чда, ГОСТ 4166-76.

Натрий хлористый, чда, ГОСТ 4233-77.

N-Нитрозометилмочевина, хч, ТУ 6-09-11-1643-82.

Серная кислота, осч, ГОСТ 14262-78.

Смесь ацетон : этанол, 80:20, по объему.

Смесь н-гексан : этиловый эфир, 70:30, по объему.

Спирт этиловый ректификат (этанол), ГОСТ 17299-78.

Фильтры бумажные, белая лента, ТУ 2642-001-42624157-98.

Фильтры бумажные, синяя лента, ТУ 2642-001-42624157-98.

Эфир этиловый (серный), ОСТ 84-2006-88.

2.3. Приборы, аппаратура, посуда.

Газовый хроматограф с ТИД.

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая длиной 15 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой SE-52, толщина слоя - 0,45 мкм.

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081-73 или аналогичный.

Весы аналитические типа ВЛА-200, ГОСТ 34104-80.

Весы лабораторные типа ВЛКТ-500, ГОСТ 24104-80.

Воронки делительные емкостью 500 мл, ГОСТ 25336-82.

Воронки химические конусные, ГОСТ 25336-82.

Индикаторная бумага универсальная, ТУ 6-09-1181-76.

Колбы-концентраторы емкостью 150 и 250 мл, ГОСТ 25336-82.

Колбы плоскодонные емкостью 250 мл, ГОСТ 25336-82.

Колбы мерные со шлифом емкостью 25, 50, 100 мл, ГОСТ 1770-74.

Колпачки алюминиевые для герметизации флаконов, ГОСТ Р.51314-99.

Микрошприц МШ-10, ТУ 2-833-106.

Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.

Ротационный вакуумный испаритель типа ИР-1 или аналогичный.

Пипетки мерные емкостью 1, 2, 5 и 10 мл, ГОСТ 20292-74.

Приспособление для обжима колпачков на флаконах, ТУ 42-2-2442-73.

Пробирки мерные со шлифом емкостью 5,0 мл, ГОСТ 1770-74.

Стаканы химические емкостью 500 мл, ГОСТ 25336-82.

Установка для перегонки растворителей при атмосферном давлении.

Установка для упаривания растворителей в токе азота.

Установка ультразвуковая "Серьга" УЗМ002 или аналогичная.

Флаконы стеклянные (типа пенициллиновых) емкостью 5,0 мл, ТУ 64-2-10-87.

Электроплитка, ГОСТ 14919-83.

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Подготовка и очистка растворителей.

Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 мл растворителя упаривают в ротационном вакуумном испарителе при температуре 40^{0}С до объема 1,0 мл и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с общепринятыми методиками.

2.4.2. Приготовление стандартных растворов.

Основной раствор хизалофоп-П кислоты с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением в смеси ацетон : этанол (80:20) 0,01 г аналитического стандарта в мерной колбе емкостью 100 мл. Раствор хранят в холодильнике при температуре +4-6^{0}С не более трех месяцев.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 4,0 , 2,0 , 1,0 и 0,5 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора хизалофоп-П кислоты соответствующим последовательным разбавлением ацетоном.

Для приготовления калибровочных растворов в пробирки мерные со шлифом емкостью 5,0 мл вносят по 1,0 мл рабочих растворов хизалофоп-П кислоты с концентрациями 0,5 , 1,0 , 2,0 и 4,0 мкг/мл. Растворители в пробирках упаривают в токе азота досуха и проводят метилирование хизалофоп-П кислоты.

В пробирки с сухим остатком добавляют по 2,0 мл свежеприготовленного (п.2.4.4.) эфирного раствора диазометана. Пробирки закрывают притертыми пробками и ставят на 12-14 часов (на ночь) в холодильник с температурой +4-6^{0}С. После этого эти-

ловый эфир в пробирках упаривают досуха в токе азота при комнатной температуре. Сухой остаток растворяют в 1,0 мл изооктана и хроматографируют по п.2.6.3.

2.4.3. Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 2 мкл приготовленных по п.2.4.2. растворов, содержащих хизалофоп-П кислоту (в виде хизалофоп-П-метила) в концентрациях 0,5 , 1,0 , 2,0 и 4,0 мкг/мл. Осуществляют не менее трех параллельных измерений и находят среднее значение высоты (площади) хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты (площади) хроматографического пика в мм ($мм^2$) от концентрации хизалофоп-П кислоты в рабочих растворах в мкг/мл.

2.4.4. Приготовление эфирного раствора диазометана (из расчета метилирования хизалофоп-П кислоты в экстрактах 2-х проб).

N-Нитрозометилмочевину массой 0,5 г помещают во флакон емкостью 2,0-3,0 мл и герметизируют резиновой пробкой и колпачком с помощью приспособления для обжима колпачков на флаконах. Этиловый эфир объемом 4,0 мл вносят в другой флакон емкостью 5,0 мл, герметизируют резиновой пробкой и колпачком и охлаждают в морозильной камере холодильника в течение 30 минут.

После этого флаконы через предварительно проколотые пробки соединяют гибкой тефлоновой трубкой (внутр.диам. ~ 1,5-2,0 мм), одним концом погружая ее в этиловый эфир на всю глубину (флакон с охлажденным этиловым эфиром обязательно должен еще иметь свободный выход в атмосферу). Во флакон с нитрозометилмочевиной, используя шприц с тонкой иглой и прокалывая пробку, добавляют по каплям по стенке 50% водный раствор гидроокиси калия (~ 0,3 мл) до прекращения реакции. Этиловый эфир при насыщении диазометаном окрашивается в ярко желтый цвет.

Внимание ! Приготовление эфирного раствора диазометана и процедуру метилирования необходимо обязательно проводить в работающем вытяжном шкафу.

2.5. Отбор, первичная обработка и хранение проб.

Отбор проб для анализа проводят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 21.08.1979 г., № 2051-79.

Репки лука после отбора проб моют, обсушивают фильтровальной бумагой, удаляют шелуху и из каждой репки по осевой линии вырезают 1/4 часть. Корнеплоды моркови после отбора проб моют, обсушивают фильтровальной бумагой и из каждого кор-

неплода по осевой линии вырезают 1/2 часть. Полученные усредненные пробы измельчают, перемешивают и выделяют аналитические пробы.

Для длительного хранения аналитические пробы репок лука и корнеплодов моркови помещают в морозильную камеру с температурой -18^0С и хранят в закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре.

В пробах капусты из каждого кочана по осевой линии вырезают 1/8 часть. Полученную среднюю пробу измельчают, перемешивают и выделяют аналитические пробы. Для длительного хранения аналитические пробы кочанов капусты помещают в морозильную камеру с температурой -18^0С и хранят в закрытой стеклянной или полиэтиленовой таре.

2.6. Проведение определения.

2.6.1. Экстрагирование и очистка экстракта.

Аналитическую пробу массой 10,0±0,1 г помещают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, добавляют 150 мл смеси ацетон : этанол (80:20), слегка встряхивают и подвергают обработке ультразвуком в УЗ-бане в течение 10 минут. После этого экстракт фильтруют через бумажный фильтр белая лента в колбу-концентратор емкостью 250 мл. Содержимое колбы с пробой промывают 50 мл ацетона, который также фильтруют в колбу-концентратор.

При использовании аппарата для встряхивания в колбу с аналитической пробой вносят 150 мл смеси ацетон : этанол (80:20) и встряхивают в течение 60 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр белая лента в колбу-концентратор емкостью 250 мл. Содержимое колбы с пробой промывают 50 мл ацетона, который также фильтруют в колбу-концентратор.

Колбу-концентратор с объединенным экстрактом подсоединяют к ротационному вакуумному испарителю и упаривают растворитель до объема 10-20 мл при температуре $+40^0$С. В колбу-концентратор добавляют 200 мл бидистиллированной воды и 5,0 мл 10% водного раствора гидроокиси калия. Содержимое колбы перемешивают встряхиванием и выдерживают в холодильнике при температуре $+4$-6^0С в течение 4-5 часов. После этого содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр белая лента в делительную воронку емкостью 500 мл. В воронку добавляют 20 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия и после перемешивания 75 мл дихлорметана. Содержимое воронки энергично встряхивают в течение 2-х минут. После 15-ти минутного отстаивания нижний дихлорметановый слой сливают и отбрасывают. Процедуру очистки экс-

тракта с использованием 50 мл дихлорметана повторяют. Далее в воронку добавляют 30 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия и после перемешивания 75 мл н-гексана. Содержимое воронки энергично встряхивают в течение 2-х минут. После 5-ти минутного отстаивания нижний водный слой сливают в химический стакан емкостью 500 мл, а верхний гексановый слой сливают и отбрасывают.

Водный раствор пробы, находящийся в химическом стакане, подкисляют концентрированной серной кислотой до pH 2,0 и переносят в чистую делительную воронку емкостью 500 мл. В воронку добавляют 100 мл смеси гексан : этиловый эфир (70:30) и встряхивают в течение 2-х минут. После полного разделения слоев нижний водный слой сливают и отбрасывают. В делительную воронку добавляют 200 мл бидистиллированной воды, 1,0 мл 5,0 % водного раствора серной кислоты и 10 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия. Содержимое воронки встряхивают в течение 2-х минут. После полного разделения слоев нижний водный слой сливают и отбрасывают. Данную процедуру очистки экстракта повторяют еще один раз. После этого верхний гексано-эфирный слой фильтруют через фильтр синяя лента со слоем безводного сульфата натрия (толщина слоя ~ 1,0-1,5 см) в колбу-концентратор емкостью 150 мл.

Колбу-концентратор с объединенным гексано-эфирным экстрактом подсоединяют к ротационному вакуумному испарителю и упаривают растворители при температуре +40^{0}С до объема 3-5 мл. Остаток экстракта переносят в мерную пробирку со шлифом емкостью 5,0 мл и упаривают растворители в токе азота досуха при температуре +40^{0}С.

2.6.2. Метилирование хизалофоп-П кислоты.

В пробирку с сухим остатком добавляют 2,0 мл свежеприготовленного по п.2.4.4. эфирного раствора диазометана. Пробирку закрывают притертой пробкой и ставят на 12-14 часов (на ночь) в холодильник с температурой +4-6^{0}С. После этого эфир в пробирке упаривают досуха в токе азота и сухой остаток растворяют в 0,5 мл изооктана. Газохроматографический анализ на содержание хизалофоп-П-этила проводят по п.2.6.3.

2.6.3. Условия хроматографирования.

Газовый хроматограф с ТИД.

Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая длиной 15 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой SE -52, толщина слоя - 0,45 мкм.

Температура колонки: программирование от 180^{0}С (1 мин) до 280^{0}С (15 мин) со скоростью 10^{0}С/мин.

Температура испарителя: 250^{0}С.

Температура детектора: 290^{0}С.

Расход газов: газа-носителя (гелий марки "А") - 2,0 $см^3$/мин, водорода и воздуха к ТИД - 30 и 250 $см^3$/мин соответственно, дополнительного газа (гелий марки "А") к ТИД - 35 $см^3$/мин.

Количество вводимой пробы: 2 мкл.

Время удерживания хизалофоп-П-метила: 13,7±0,1мин.

Предел детектирования: 0,5 нг.

Линейный диапазон детектирования: 1,0-8,0 нг.

2.6.4. Обработка результатов анализа.

Содержание хизалофоп-П кислоты рассчитывают методом внешнего стандарта по формуле:

$$X = \frac{H \times A \times V}{H_{ст} \times m}$$, где:

X – содержание хизалофоп-П кислоты в пробе, мг/кг;

H – высота (площадь) пика анализируемого вещества, мм ($мм^2$),

$H_{ст}$ – высота (площадь) пика стандартного вещества, мм ($мм^2$),

A – концентрация стандартного рабочего раствора хизалофоп-П кислоты, мкг/мл,

V – количество экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл,

m – масса (г) аналитической пробы.

Пересчет на содержание хизалофоп-П-этила (X_1) проводят по формуле:

$$X_1 = 1{,}08 \cdot X$$

3. Требования техники безопасности.

Необходимо соблюдать общепринятые правила техники безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами, а также требования, изложенные в документации к приборам.

4. Контроль погрешности измерений.

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости результатов измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335-95 "Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа".

5. Разработчики.

gost.e-ecolog.ru

ю, П.А.Тараринн, Т.А. Маханькова, Л.В. Григорьева, Е.И.Кожемякова (ВНИИ защиты растений).