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
МУК 4.1.1950-05
Дата введения: 18.04.05

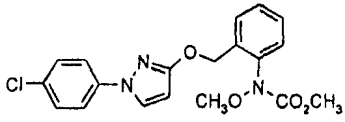
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по измерению концентраций пираклостробина в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воздухе рабочей зоны массовой концентрации пираклостробина в диапазоне 0,05 - 1 мг/м^3.

Пираклостробин - действующее вещество препарата КАБРИО ТОП, ВДГ, 600 г/кг, фирма производитель БАСФ АГ, Германия.

Метил N-{2-[1-(4-хлорфенил)-1Н-пиразол-3-илоксиметил]фенил}(N-метокси)карбамат (IUPAC)



$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$
Мол. масса 387,8

Бесцветное или светло-бежевое кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления 63,7-65,2^{0}С. Давление паров при 20^{0}С: 2,6x10^{-5} мПа. Растворимость в органических растворителях при 20^{0}С (г/дм^3): ацетон – более 200, ацетонитрил – более 980; изопропанол – 40; метанол – 140. Растворимость в воде при 20^{0}С – 1,9 мг/дм^3.

Пираклостробин стабилен в водной среде при pH 5 –7 более 30-ти дней, подвержен в воде фотолизу: DT50 - менее 2-х часов. В почве период полураспада составляет 2 - 37– дней.

Агрегатное состояние в воздухе - аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 2000 мг/кг.

Область применения препарата

Пираклостробин – фунгицид из группы стробилуринов контактного и глубинного действия с длительным защитным эффектом. Высокоэффективен против возбудителей ложной и мучнистой настоящей росы. Рекомендуется для борьбы с фитопатогенными грибами на зерновых, овощных и плодовых культурах.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) пираклостробина в воздухе рабочей зоны - 1,0 мг/м^3.

1. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений с погрешностью (δ), не превышающей ± 25%, при доверительной вероятности 0,95.

2. Метод измерения

Измерения концентраций пираклостробина выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Концентрирование пираклостробина из воздуха осуществляют на бумажные фильтры "синяя лента", экстракцию с фильтра проводят ацетоном.

Нижний предел измерения в анализируемом объеме пробы - 1нг.

Определению не мешают компоненты препаративной формы.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США)	Номер Госреестра 15945-97
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104

Пробоотборное устройство ОП-442ТЦ (ЗАО "ОПТЭК", г. Санкт-Петербург) или аспирационное устройство ЭА-1	ТУ 25-11-1414-78
Барометр-анероид М-67	ТУ 2504-1797-75
Термометр лабораторный шкальный ТЛ-2, цена деления 1^0С, пределы измерения 0 - 55^0С	ТУ 215-73Е
Колбы мерные вместимостью 100 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные вместимостью 5 или 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 50 и 500 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Пираклостробин с содержанием действующего вещества не менее 99,9% (БАСФ, Германия)	
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
Кислота уксусная, ледяная	ГОСТ 61-75
Ацетон	ГОСТ 2603
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-4326-76

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

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Бумажные фильтры "синяя лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Воронки конусные диаметром 30-37 мм	ГОСТ 25336
Груша резиновая	
Колбы грушевидные на шлифе вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 10394
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696
Пробирки центрифужные	ГОСТ 25336

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	ТУ 25-11-917-74
Стаканы химические, вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Кромасил 100 С 18, зернением 7мкм	
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50 – 100 $мм^3$	

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами по ГОСТу 12.1005.

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

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

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

Перед выполнением измерений проводят очистку ацетона и ацетонитрила (при необходимости), подготовку подвижной фазы для ВЭЖХ, приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, отбор проб.

7.1. Очистка растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 $дм^3$ ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

7.1.2. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 270 $см^3$ воды, 1 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, добавляют 730 $см^3$ ацетонитрила, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.3. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой (п. 7.2.) при скорости подачи растворителя 1 $см^3$/мин до установления стабильной базовой линии.

7.4. Приготовление градуировочных растворов

7.4.1. Исходный раствор пираклостробина для градуировки (концентрация 1 мг/$см^3$) В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,1 г пираклостробина, доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение 3-х месяцев.

Растворы № 1-5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора.

7.4.2. Раствор № 1 пираклостробина для градуировки (концентрация 10 мкг/$см^3$)

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ исходного раствора

пираклостробина с концентрацией 1 мг/см^3 (п. 7.4.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки. Раствор хранится в холодильнике в течение 3-х месяцев.

7.4.3. Рабочие растворы № 2 -6 пираклостробина для градуировки (концентрация 0.05 - 1.0 мкг/см^3) В 5 мерных колб вместимостью 100 см^3 помещают по 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 и 10.0 см^3 раствора №1 с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.4.2.), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 6 с концентрацией пираклостробина 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 и 1.0 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике в течение 10-ти суток.

7.5. Отбор проб

Отбор проб воздуха проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 "ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны".

В течение 15 минут последовательно отбирают 3 пробы, для чего воздух аспирируют в течение 5 минут с объемным расходом 1-5 дм^3/мин через бумажный фильтр "синяя лента", помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации пираклостробина на уровне 0,5 ОБУВ для воздуха рабочей зоны необходимо отобрать 1 дм^3 воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в холодильной камере при +4^{0}С - 7 дней.

7.6. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (отн. единицы) от концентрации пираклостробина 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. 7.6.1. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площадь пика пираклостробина.

7.6.1. Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором Perkin-Elmer (США)

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Кромасил 100 С 18, зернением 7мкм.

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода – уксусная кислота (73:27:0,1, по объему)

Скорость потока элюента: 1 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 276 нм

Чувствительность: 0,02 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 $мм^3$

Ориентировочное время выхода пираклостробина: 6,0 – 6,33 мин

Линейный диапазон детектирования: 1 - 20 нг

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор пираклостробина с концентрацией 1,0 мкг/$см^3$, разбавляют ацетонитрилом.

Градуировочный график проверяют ежедневно по анализу 2-х стандартных растворов различной концентрации. Если значения площади отличаются более, чем на 5 % от данных, заложенных в градуировочную характеристику, ее строят заново, используя свежеприготовленные рабочие стандартные растворы.

8. Выполнение измерений

Фильтр с отобранной пробой переносят в химический стакан вместимостью 100 $см^3$, заливают 10 $см^3$ ацетона, оставляют на 4 - 5 минут, периодически перемешивая. Растворитель сливают, фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями ацетона объемом 10 $см^3$.

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35^0С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха, остаток растворяют в 10 $см^3$ ацетонитрила и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.6.1.

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площадь пика, с помощью градуировочного графика определяют концентрацию пираклостробина в хроматографируемом растворе.

Перед анализом опытной пробы проводят хроматографирование холостой (контрольной) пробы - экстракта неэкспонированного фильтра.

9. Обработка результатов измерений

Массовую концентрацию пираклостробина в пробе воздуха рабочей зоны (X, мг/$м^3$) рассчитывают по формуле:

$$X = C * W/V_{20}, \text{ где}$$

C - концентрация пираклостробина в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

W - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

V_{20} - объем пробы воздуха, отобранный для анализа, приведенный к стандартным (давление 760 мм рт.ст., температура 20° С) условиям, дм^3.

$$V_{20} = 0{,}386 * P * ut/(273+T),$$

где Т - температура воздуха при отборе пробы (на входе в аспиратор), град.С,

Р - атмосферное давление при отборе пробы, мм рт.ст.

u - расход воздуха при отборе пробы, дм^3/мин,

t - длительность отбора пробы, мин.

Примечание: Идентификация и расчет концентрации пираклостробина в пробах могут быть проведены с помощью программ обработки хроматографических данных с применением компьютера, включенного в аналитическую систему.

10. Оформление результатов измерений

За результат анализа ($\overline{X}$) принимается среднее арифметическое результатов двух параллельных определений X_1 и X_2 ($\overline{X} = (X_1 + X_2)/2$), расхождение между которыми не *превышает значений норматива оперативного контроля сходимости (d):* $|X_1 - X_2| \leq d$.

$$d = d_{отн.} * \overline{X}/100, \text{ мг/м}^3,$$

где d -норматив оперативного контроля сходимости, мг/м^3;

$d_{отн.}$ -норматив оперативного контроля сходимости, % (равен 10%).

Результат количественного анализа представляют в виде:

- результат анализа $\overline{X}$ (мг/м^3), характеристика погрешности δ, %, P = 0,95 или $\overline{X} \pm \Delta$ мг/м^3, P = 0,95, где

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \overline{X}}{100}, \text{ мг/м}^3$$

Результат измерений должен иметь тот же десятичный разряд, что и погрешность.

11. Контроль погрешности измерений

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

12. Разработчики

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, г. Мытищи Московской обл.);

gost.e-ecolog.ru