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 4.1.1946-05
Дата введения: 18.04.05

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДИФЕНОКОНАЗОЛА В ВОДЕ, ЗЕРНЕ И СОЛОМЕ ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ ЗЛАКОВ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

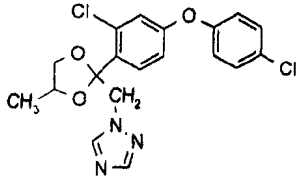
1 **Вводная часть**

Торговое наименование: Дивиденд, Скор

Фирма производитель: Сингента Кроп Протекшн АГ

Действующее вещество: дифеноконазол

Структурная формула:



Цис,транс-3-хлор-4[4-метил-2-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил-метил)-1,3-диоксолан-2-ил-] фенил-4-хлорфенилэфир (номенклатура IUPAC)

Эмпирическая формула: $C_{19}H_{17}Cl_2H_3O_3$

Молекулярная масса: 406,3

Физическое состояние: кристаллическое вещество

Растворимость в воде: 0,016 г/л (25 °С)

Растворимость в органических растворителях (г/л, 20°С): ацетон - 610, толуол - 490, октанол - 95, этанол – 330, н-гексан – 0,0034

Температура плавления: 78,6 °С

Острая пероральная токсичность для крыс LD_{50} 1453 мг/кг; острая дермальная токсичность для кролика LD_{50} > 2100 мг/кг; острая ингаляционная токсичность для крыс LC_{50} 3300 мг/м^3 воздуха.

Гигиенические нормативы: ПДК в воде – 0,001 мг/л, зерно хлебных злаков – не допускается в пределах чувствительности метода контроля.

Область применения: действующее вещество системных фунгицидов, применяемых для борьбы с болезнями яблони, груши, свеклы и зерновых культур.

2. Методика определения дифеноконазола в воде, зерне и соломе хлебных злаков методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на определении дифеноконазола с помощью газожидкостной хроматографии с детектором постоянной скорости рекомбинации электронов при анализе: 1) зерновых культур после экстракции дифеноконазола из зерна и соломы ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе органических фаз и его дополнительной очистки колоночной хроматографией; 2) воды - после экстракции дифеноконазола из воды гексаном.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии других пестицидов, применяемых при возделывании зерновых культур.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Метрологические и статистические показатели (p=0,95, n = 20)

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение	Доверительный интервал среднего результата, ±%
Вода	0,0002	0,0002-0,002	77,5	8,1	8,5
Зерно пшеницы	0,01	0,01-0,1	94,7	7,8	8,1
Солома пшеницы	0,04	0,04-0,4	89,2	8,1	8,5

Таблица 2

Полнота определения дифеноконазола в воде, зерне и соломе пшеницы

Объект	Добавлено, мг/кг	Обнаружено, мг/кг	Доверительный интервал, ± (p=0,95, n = 5)	Полнота определения, %
Вода	0,0002	0,00017	0,000026	84,2
	0,0004	0,00033	0,000018	81,4
	0,0010	0,00070	0,000048	70,0
	0,0020	0,00148	0,000096	74,3
Зерно пшеницы	0,01	0,0110	0,00115	110,0
	0,02	0,0170	0,00095	85,0
	0,05	0,0440	0,00339	88,1
	0,10	0,0963	0,00847	96,3
Солома пшеницы	0,04	0,0396	0,00459	99,0
	0,08	0,0674	0,00586	84,2
	0,20	0,1928	0,01311	96,4
	0,40	0,3124	0,02156	78,1

2.2. Реактивы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы и материалы

Дифеноконазол 99% (Сингента Кроп Протекшн АГ)
Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-7.4
Ацетонитрил для хроматографии, х.ч. ТУ-6-09-4326-76
Вода деионизированная
Гексан, хч, ТУ , 6-09-3375-78
Сульфат натрия безводный чда, ГОСТ 4166-76
Фильтры бумажные "синяя лента", ТУ 6-09-1678-77
Этанол 96%, ГОСТ 5962-81
Эфир диэтиловый, ГОСТ 6265-74

2.2.2. Приборы, аппаратура и посуда

Газовый хроматограф «Тракор 570» с детектором по электронному захвату или аналогичный
Аппарат для встряхивания ТУ 64-1-1081-73 или аналогичный
Вакуумный роторный испаритель ИР-1М ТУ 25-11-917-74 или аналогичный
Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные
Весы лабораторные технические ВЛТК-500 или аналогичные
Воронки конические, ГОСТ 25336-82Е
Делительные воронки на 100 мл, ГОСТ 25336-82Е
Делительные воронки на 1000 мл, ГОСТ 25336-82Е
Колбы конические емкостью 250-500 мл, ГОСТ 10394-74
Колбы грушевидные для отгонки растворителей, ГОСТ 23932-79
Колбы мерные на 100 мл, ГОСТ 1770-74
Концентрирующие колонки-патроны ДИАПАК Фенил, АО "Биохиммак",
ТУ 4215-002-05451931-94
Мельница электрическая лабораторная, ТУ 46-22-236-79 или аналогичная
Микрошприц 10 мкл, МШ-10, ГОСТ 20292-74
Цилиндры мерные на 25,50, 100 мл, ГОСТ 1770-74Е

2.3. Отбор проб

Отбор проб производится 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 августа 1979 г. № 2051-79. Отобранные образцы хранят до анализа в морозильной камере при температуре -18°С. Перед анализом зерно размалывают на мельнице, солому измельчают на части размером не более 0,5 см.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Подготовка растворителей

Очистку растворителей осуществляют общепринятыми методами.

2.4.2. Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор 100 мкг/мл дифеноконазола готовят в 100 мл мерной колбе, растворяя 10 мг действующего вещества в ацетоне. Из основного стандартного раствора дифеноконазола методом последовательного разбавления готовят калибровочные растворы вещества в гексане с концентрациями: 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 мкг/мл. Основной и рабочие стандартные растворы хранят в холодильнике в течение 30 суток.

2.4.3. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика снимают хроматограммы стандартных растворов, вводя в инжектор хроматографа последовательно 5 раз по 5 мкл каждого стандартного раствора. Измеряют высоты пиков, рассчитывают их средние значения для каждой концентрации и строят график зависимости высоты пика от концентрации дифеноконазола.

2.4.4. Проверка хроматографического поведения дифеноконазола на патроне Диапак Фенил

Предварительно патрон Диапак Фенил кондиционируют, пропуская через него 3 мл гексана. На кондиционированный патрон наносят 0,1 мкг дифеноконазола в 1 мл гексана. Патрон промывают 10 мл смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1) и элюат отбрасывают. Затем дифеноконазол элюируют последовательно десятью 1 мл порциями метанола. Каждую фракцию упаривают отдельно, после чего сухой остаток растворяют в 5 мл гексана и аликвоту 5 мкл вводят в хроматограф.

Рассчитывают содержание дифеноконазола в каждой фракции и определяют объем элюента, необходимый для наиболее полного элюирования вещества с патрона. Для данной методики он равен 5 мл метанола.

2.5. Описание методики

2.5.1. Вода

Образец воды фильтруют через бумажный фильтр "синяя лента". 500 мл отфильтрованной воды помещают в 1 л делительную воронку. Дифеноконазол экстрагируют в 50 мл гексана в течение 5 минут, энергично встряхивая воронку. После разделения фаз нижний водный слой отбрасывают. Процедуру экстракции повторяют еще два раза. Из объединенного гексанового экстракта удаляют воду, пропуская его через слой сульфата натрия, и затем его упаривают досуха на вакуумном роторном испарителе при температуре воды в бане 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл гексана и аликвоту 5 мкл хроматографируют на газожидкостном хроматографе.

2.5.2. Зерно и солома пшеницы

Для анализа берут 10 г размолотого зерна или 2,5 г соломы. Пробу помещают в коническую колбу на 250 мл, приливают 50 мл ацетонитрила и экстрагируют дифеноконазол встряхивая пробу в течение 1 час. Экстракт фильтруют через плотный фильтр (синяя лента) в мерный стакан на 150 мл. Процедуру экстракции повторяют, повторный экстракт фильтруют через тот же фильтр и объединяют с первым в мерном стакане. Из объединенного экстракта отбирают аликвоту 80 мл, помещают ее в грушевидный концентратор на 150 мл и растворитель упаривают на роторном испарителе под вакуумом при температуре воды в бане 40°С. Сухой остаток в концентраторе растворяют в 5 мл ацетонитрила и переносят в делительную воронку на 100 мл. Концентратор дважды промывают 5 мл порциями ацетонитрила, которые также переносят в делительную воронку. В делительную воронку добавляют 4 мл гексана и содержимое встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. Процедуру повторяют еще два раза. Ацетонитрил упаривают в концентраторе на вакуумном роторном испарителе досуха. Сухой остаток количественно переносят в колонку ДИАПАК Фенил тремя последовательными порциями гексана по 3 мл (предварительно колонку ДИАПАК Фенил кондиционируют пропусканием 3 мл гексана). Для извлечения сорбированных на колонке органических коэкстрактивных веществ колонку промывают 10 мл смеси гексан-диэтиловый эфир (9:1). Промывную смесь отбрасывают. Колонку сушат, пропуская через нее воздух. Дифеноконазол элюируют из колонки 5 мл метанола, который затем испаряют на вакуумном роторном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл гексана (в 2,5 мл при анализе соломы) и аликвоту 5 мкл хроматографируют на газожидкостном хроматографе.

2.6. Условия хроматографирования

Хроматограф "Цвет 550М" с детектором постоянной скорости рекомбинации электронов

Колонка стеклянная 2000х2 мм Носитель GAS-Chrom Q 80-100 меш
Неподвижная фаза – 3% SE-30
Температура колонки – 250°С
Температура испарителя - 250°С
Температура детектора – 350°С
Расход газа-носителя – 40 мл/мин
Вводимый объем 5 мкл
Шкала ленты самописца 30 см/час
Время удерживания дифеноконазола – 4 мин. 20 сек.
Линейный диапазон детектирования – 0,125-2,5 нг

2.7. Обработка результатов анализа

Содержание дифеноконазола рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$C = \frac{H_i \cdot C_{cm} \cdot V}{H_{cm} \cdot m \cdot 100 \cdot k} P$$

C – содержание дифеноконазола в анализируемом объеме (мг/кг, мг/л);
H_i – высота пика дифеноконазола анализируемого образца (отн. ед.);
H_{cm} – высота пика дифеноконазола стандартного раствора (отн. ед.);
C_{cm} – концентрация стандартного раствора дифеноконазола (мкг/мл);
V – объем экстракта (мл);
m – масса анализируемого образца (г);
k – аликвота экстракта, которая берется для последующего анализа (мл);
P – содержание дифеноконазола в аналитическом стандарте (%).

3. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами.

4. Разработчики

В.С. Бондарев, ст. научн. сотр., канд. биол. наук, В.С. Горбатов, ст. научн. сотр., канд. биол. наук, В.Н. Колупаева, научн. сотр., канд. биол. наук.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии. 143050, Московская обл., Одинцовский р-н, п/о Б. Вяземы, ВНИИФ. Телефон: (233) 4-31-05, факс (233) 40902

gost.e-ecolog.ru