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 4.1.1942-05
Дата введения: 18.04.05

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ГАЛОКСИФОП-Р-МЕТИЛА В РЕПКАХ ЛУКА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОЙ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1. Вводная часть.

1.1. Краткая характеристика препарата.

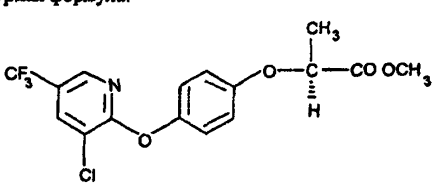
Фирма-изготовитель: Дау АгроСаенсес.

Торговое название: Зеллек-супер.

Действующее вещество: галоксифоп-Р-метил.

Название по номенклатуре ИЮПАК: (R)-2-[4-(3-хлоро-5-трифторометил-2-пиридилокси)феноксиJпропионовой кислоты метиловый эфир.

Структурная формула:



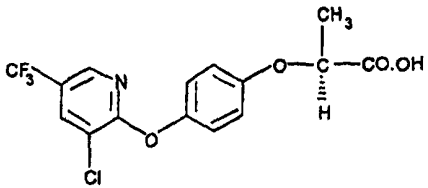
Эмпирическая формула: $C_{16}H_{13}ClF_3NO_4$.

Молекулярная масса: 375,7.

Химически чистый метиловый эфир галоксифоп-Р кислоты представляет собой светлокоричневую жидкость. В биологических средах легко гидролизуется до галоксифоп-Р кислоты.

Название галоксифоп-Р кислоты по номенклатуре ИЮПАК: (R)-2-[4-(3-хлоро-5-трифторометил-2-пиридилокси)фенокси]пропионовая кислота.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{15}H_{11}ClF_3NO_4$.

Молекулярная масса: 361,7.

Химически чистое вещество: бесцветные кристаллы.

Температура плавления: 107-108^{0}C.

Растворимость (г/л) при 25^{0}C: в воде - 0,043, хорошо растворяется в большинстве органических растворителях.

1.2. Краткая токсикологическая характеристика галоксифоп-Р-метила.

LD_{50} для крыс – 393-599 мг/кг, для кроликов – >5000 мг/кг. Не оказывает раздражающего действия на кожу, слабо раздражает глаза.

Гигиенические нормативы: ПДК в воде водоемов – 0,001 мг/л, ОДК в почве – 0,15 мг/кг, МДУ в свекле сахарной и кормовой, подсолнечнике и сое (семена), масле растительном – 0,05 мг/кг, в рапсе (семена) – 0,2 мг/кг, ВМДУ в картофеле – 0,01 мг/кг.

1.3. Область применения препарата.

Гербицид для борьбы с однолетними и многолетними злаковыми сорными растениями.

2. Метод определения галоксифоп-Р-метила в репках лука с применением капиллярной газожидкостной хроматографии.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении остаточных количеств галоксифоп-Р кислоты из анализируемого объекта органическими растворителями, проведении очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и метилировании галоксифоп-Р кислоты диазометаном.

Количественное определение проводят методом внешнего стандарта с применением капиллярной газожидкостной хроматографии и использованием детектора электронного захвата (ДЭЗ).

2.1.2. Избирательность метода.

Метод специфичен в присутствии других применяемых пестицидов. Проведение очистки экстрактов, а также использование капиллярной колонки и 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.

Метрологические параметры метода.

Метрологические параметры	Анализируемые объекты: Репки лука
Предел обнаружения, мг/кг	0,01
Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	0,01-0,08
Среднее значение определения, %	82,7
Стандартное отклонение, %	5,2
Относительное стандартное отклонение, %	2,8

Таблица 2.

Полнота определения галоксифоп-Р-метила в модельных пробах (n=6).

Анализируемые объекты	Внесено, мг/кг	Извлечено, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Репки лука	0,01	75,5	± 6,8
	0,02	80,3	± 5,2
	0,04	85,4	± 4,5
	0,08	89,7	± 4,1

2.2. Реактивы, растворы, материалы.

Аналитический стандарт галоксифоп-Р кислоты.

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

Ацетон, осч, ТУ 2633-004-11291058-94.

Вода дистиллированная и перегнанная над $KMnO_4$ и щелочью.

н-Гексан, хч, ТУ 6-09-3375-78.

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

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

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 ДЭЗ.

Колонка хроматографическая кварцевая капиллярная длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой ВР-50 (OV-17, HP-17, DB-17), толщина слоя 0,5 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 галоксифоп-Р кислоты с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением в ацетоне 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 1,6, 0,8, 0,4 и 0,2 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора галоксифоп-Р кислоты последовательным разбавлением ацетоном. Рабочие растворы хранят в холодильнике при температуре +4-6^{0}С не более месяца.

Для приготовления калибровочных растворов в мерные пробирки со шлифом емкостью 5,0 мл вносят по 1,0 мл рабочих растворов галоксифоп-Р кислоты с концентрациями 0,2, 0,4, 0,8 и 1,6 мкг/мл. Растворитель в пробирках упаривают в токе азота досуха и проводят метилирование галоксифоп-Р кислоты по п.2.4.3.

2.4.3. Метилирование галоксифоп-Р кислоты.

В пробирки с сухим остатком добавляют по 2,0 мл свежеприготовленного по п.2.4.5. эфирного раствора диазометана. Пробирки закрывают пробками и ставят на 12-14 часов (на ночь) в холодильник с температурой +4-6^{0}С. После этого эфир в пробирках упаривают досуха в токе азота и сухой остаток растворяют в 1,0 мл изооктана.

2.4.4. Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа (п.2.6.3.) вводят по 1 мкл приготовленных по п.2.4.3. растворов, содержащих галоксифоп-Р-метил в концентрациях 0,2 , 0,4 , 0,8 и 1,6 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 галоксифоп-Р-метила в рабочем растворе в мкг/мл.

2.4.5. Приготовление эфирного раствора диазометана (из расчета метилирования галоксифоп-Р 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 количеством 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 (~ 0,5 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 21.08.1979г., № 2051-79.

Репки лука после отбора проб моют, обсушивают фильтровальной бумагой, удаляют шелуху и из каждой репки по осевой линии вырезают 1/4 часть. Полученную среднюю пробу измельчают, перемешивают и выделяют аналитические пробы.

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

2.6. Проведение определения.

2.6.1. Экстрагирование галоксифоп-Р кислоты.

Аналитическую пробу репок лука массой 20±0,1 г помещают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, добавляют 150 мл ацетона, слегка встряхивают и подвергают обработке ультразвуком в УЗ-бане в течение 10 мин. После этого содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр красная 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 плоскодонную колбу с аналитической пробой вносят 150 мл ацетона и встряхивают в течение 60 минут. После этого содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр красная 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, 2,0 мл 5,0 % водного раствора серной кислоты и содержимое колбы перемешивают встряхиванием. Колбу-концентратор помещают в холодильник и выдерживают при температуре +4-6^{0}С в течение 4-5 часов. После этого содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр белая лента в делительную воронку емкостью 500 мл. В воронку добавляют 10% водный раствор гидроокиси калия до pH 9-10, 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 экстракта 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 ацетоно-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 галоксифоп-Р кислоты.

В пробирку с сухим остатком добавляют 2,0 мл свежеприготовленного по п.2.4.5. 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 1,0 мл изооктана. Газохроматографический анализ на содержание галоксифоп-Р-метила проводят по п.2.6.3.

2.6.3. Условия хроматографирования.

Газовый хроматограф с ДЭЗ.

Колонка хроматографическая капиллярная длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой BP-50 (OV-17, HP-17, DB-17), толщина слоя - 0,5 мкм.

Температура колонки: программирование от 100^{0}С (3 мин) до 280^{0}С (25 мин) со скоростью 8,0^{0}С/мин.

Температура испарителя: 240^{0}С.

Температура детектора: 300^{0}С.

Расход газов: газа-носителя (азот в/ч) - 1,5 см^3/мин, дополнительного газа (азот в/ч) к ДЭЗ - 40 см^3/мин.

Объем вводимой пробы: 1 мкл.

Время удерживания галоксифоп-Р-метила: 23,2±0,05 мин.

Предел детектирования: 0,1 нг.

Линейный диапазон детектирования: 0,2-2,0 нг.

2.6.4. Обработка результатов анализа.

Содержание галоксифоп-Р-метила рассчитывают методом внешнего стандарта по формуле:

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

X – содержание галоксифоп-Р-метила в пробе, мг/кг,

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

Q – концентрация стандартного раствора галоксифоп-Р-метила, мкг/мл,

V – количество экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл,

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

m – масса (г) аналитической пробы.

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.

П.А.Тарарин, Т.А. Маханькова, Л.В. Григорьева (ВНИИ защиты растений).

gost.e-ecolog.ru