ГОСУДАРСТВЕННОЕ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СБОРНИК

МЕТОДИЧЕСКИХ ДОКУМЕНТОВ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКОНА ОТ 12.06.08 №88-ФЗ

«Технический регламент на молоко и молочную продукцию»

Часть 3

МОСКВА 2009

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Сборник методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию»

Часть 3

ББК 51.23
С23

С23 **Сборник** методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию».—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—71 с.

ISBN 5—7508—0771—1

ББК 51.23

В сборник включены методические документы, содержащие правила и методы исследований (испытаний) и измерений, а также правила отбора образцов для проведения исследований (испытаний) и измерений, в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г. Г. Онищенко от 08.12.2008 № 67.

Технический редактор Г. И. Климова

Подписано в печать 25 02.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,5

Тираж 200 экз. Заказ 14

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш , 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

Определение остаточных количеств Пропетамфоса в молоке и мясе методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1918—04

1. Разработаны Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным центром «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов» (авторы В. А. Калинин, Т. С. Калинина, Н. В. Устименко).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко.

3. Введены впервые.

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

Г. Г. Онищенко
3 августа 2004 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств Пропетамфоса в молоке и мясе методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1918—04

1. Вводная часть

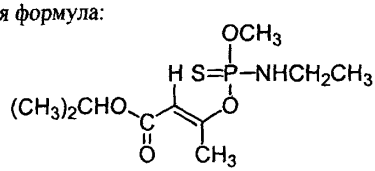
Фирма производитель: Каллиопе С.А.С.

Торговое название: Блотик.

Название действующего вещества по ИСО: Пропетамфос.

Название действующего вещества по ИЮПАК: *E-O*-2-изопропоксикарбонил-1-метилвинил-*O*-метилэтилфосфорамидотиоат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{10}H_{20}NO_4PS$

Молекулярная масса: 281,3

Физическое состояние технического продукта – желтоватая маслянистая жидкость.

Давление насыщенного пара 1,9 мПа при 20°С.

Температура кипения: 87—89 °С.

Плотность при 20 °С: 1,1294 г/мл.

Коэффициент перераспределения октанол/вода: $\log K_{ow} = 3,82$.

Растворимость: в воде – 110 мг/л; хорошо смешивается с ацетоном, этанолом, метанолом, гексаном, диэтиловым эфиром, диметилсульфоксидом, хлороформом и ксиленом.

Стабилен при хранении и на свету. Гидролитическая стабильность: DT_{50} 11 дней при pH 3; 1 год при pH 6 и 41 день при pH 9. В водной среде не разлагается в течение 70 ч.

pKa 13.67.

В почве сохраняется в течение 2—3 месяцев.

Краткая токсикологическая характеристика: Пропетамфос относится к веществам, опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ крысы – 59,5—119,0 мг/кг) и ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ крысы – 4 ч – 690—1 500 мг/м^3), но умеренно опасным по дермальной ($ЛД_{50}$ крысы – 2 260—2 850 мг/кг).

В России гигиенические нормативы не установлены.

Область применения препарата. Пропетамфос – инсектицид контактного и кишечного действия из группы органических соединений фосфора с длительным защитным эффектом. Он эффективно подавляет развитие синантропных насекомых (тараканы, мухи, моли, муравьи, комары) и эктопаразитов животных (личинки оводов, клещи и др.). Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ под торговым названием Блотик для применения в качестве ветеринарного препарата.

2. Методика определения Пропетамфоса в молоке и мясе методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Пропетамфоса методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора на фосфор после экстракции из анализируемой пробы ацетоном, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями и/или на колонке с силикагелем.

Идентификация проводится по времени удерживания. Количественное определение – методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1.

Таблица 1

Метрологические параметры, $p = 0,95$, $n = 20$					
Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг (мг/л)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, %, ±
Молоко	0,01	0,01—0,50	85,3	1,322	85,30 ± 0,62
Мясо	0,02	0,02—0,50	78,6	1,164	78,60 ± 0,54

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в ветеринарии.

2.2. Реактивы, материалы, приборы, оборудование

2.2.1. Реактивы, растворы и материалы

Пропетамфос (фирма Каллиопе С.А.С.)
Азот, осч — ГОСТ 9203—74
Ацетон, чда — ГОСТ 6006—78
Ацетонитрил, чда — ТУ 6-09-3534—87
Водород газообразный из баллона — ГОСТ 3022—80
н-Гексан, чда — ТУ 6-09-3375—78
Насадки для набивных хроматографических колонок:
Инертон-супер с 3 % OV-17 (0,16—0,20 мм)
Инертон-супер с 5 % XE-60 (0,12—0,16 мм)
Натрий серно-кислый, безводный, хч — ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч — ГОСТ 4233—77
Силикагель-60, для колончатой хроматографии
Толуол, чда — ГОСТ 5789—78
Целит 545
Этилацетат, чда — ГОСТ 22300—76
Эфир диэтиловый, чда — ГОСТ 6265—74
Эфир петролейный — ТУ МХП-1867—48

2.2.2. Посуда и оборудование

Весы аналитические — ГОСТ 24104—80
Воронки делительные объемом 250 мл — ГОСТ 25336—82Е
Воронки для фильтрования стеклянные — ГОСТ 8613—75

Встряхиватель механический	ТУ 64-1-1081—73
Испаритель ротационный вакуумный ИР-1М	ТУ 25-11-917—74
Колбы мерные, вместимостью 100 мл	ГОСТ 1770—74
Колонки хроматографические стеклянные, длиной 2 м, внутренним диаметром 2—3 мм	
Концентраторы грушевидные (конические)	
НШ29 КГУ-100-14/19, ТС	ГОСТ 10394—72
Микрошприц МШ-1А	ГОСТ 20292—74Е
Палочки стеклянные	
Пипетки мерные на 0,1; 1,0; 5,0; 10,0 мл	ГОСТ 20292—74
Пипетки мерные, вместимостью 0,1, 1,0 и 5,0 мл	ГОСТ 20292—74
Стаканы стеклянные, емкостью 500 мл	ГОСТ 25336—82Е
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6-09-016-78—86
Хроматограф газовый «Цвет-600» с термоионным детектором с пределом детектирования по фосфору (в метафосе) не ниже 8×10^3 А/мг/с или аналогичный	

2.3. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79), утвержденными заместителем Главного государственного санитарного врача СССР. Пробы воды и масла хранят в стеклянной герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4 °С; пробы яблок, зеленой массы рапса, а также клубней картофеля в полиэтиленовой таре – в морозильнике при температуре –18 °С; пробы зерна, семян рапса в бумажных или тканевых мешочках – в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор Пропетамфоса с концентрацией 100 мкг/мл готовят растворением 0,0010 г вещества в мерной колбе на 100 мл в этилацетате. Раствор хранится при комнатной температуре в течение 10 дней.

Рабочие стандартные растворы Пропетамфоса с концентрацией 0,05; 0,1; 0,25 и 0,50 мкг/мл готовят из раствора, содержащего 100 мкг/мл вещества, соответствующим последовательным разбавлени-

ем этилацетатом. Растворы хранятся при комнатной температуре в течение 10 дней.

2.4.2. Построение градуировочного графика

В испаритель хроматографа вводят по 1 мкл рабочего стандартного раствора Пропетамфоса с концентрацией 0,05; 0,1; 0,25 и 0,50 мкг/мл. Строят градуировочный график зависимости высоты хроматографического пика (мм) от содержания Пропетамфоса в хроматографическом объеме (нг).

2.4.3. Приготовление колонки

Суспензию 5 г безводного сульфата натрия в 20 мл гексана заливают в колонку с уложенной на дне ватой. После оседания сульфата натрия добавляют в колонку 6 г силикагеля и 5 г сульфата натрия. Промывают колонку 20 мл гексана, не допуская осушения верхнего слоя сорбента.

2.5. Проведение определения

2.5.1. *Молоко.* Навеску молока 50 г интенсивно перемешивают в стакане на гомогенизаторе или высокоскоростной мешалке с 200 мл ацетона в течение 3 мин или встряхивают в течение 30 мин. Экстракт переносят в центрифужный стакан и центрифугируют в течение 5 мин при 3 000 об./мин. Супернатант переносят в концентратор. Осадок в стакане экстрагируют путем встряхивания с 50 мл ацетона. Экстракты объединяют в концентраторе и упаривают ацетон. Оставшуюся жидкость переносят в делительную воронку и экстрагируют Пропетамфос гексаном три раза по 20 мл. Гексановую фракцию пропускают через безводный серно-кислый натрий и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 5—10 мл этилацетата и аликвоту 3—5 мкл хроматографируют.

2.5.2. *Мясо.* Навеску измельченного на мясорубке мяса 20—100 г помещают в стакан гомогенизатора, добавляют 20 г целита 545 и 200 мл ацетона и гомогенизируют при максимальной скорости в течение 3 мин. Переносят экстракт на воронку Бюхнера с бумажным фильтром и фильтруют под вакуумом. Остаток на фильтре возвращают в стакан гомогенизатора, добавляют 150 мл ацетона и гомогенизируют еще 2 мин. Встряхивают дополнительно субстрат на механическом встряхивателе 30 мин и фильтруют экстракт через воронку Бюхнера. Экстракты объединяют и упаривают ацетон на ротационном испарителе при $t^{\circ} = 40$ °С.

Остаток в концентраторе переносят 100 мл петролейного эфира в делительную воронку объемом 250 мл. Обмывают концентратор двумя порциями по 25 мл ацетонитрила, содержащего 5 % воды. Смыв переносят в делительную воронку. Встряхивают воронку 30 мин, дают жидкостям расслоиться и нижнюю фракцию сливают в концентратор. Повторяют экстракцию ацетонитрилом еще 3 раза (50 + 50 + 50 мл). Ацетонитрильные экстракты объединяют и упаривают досуха на ротационном испарителе при t° = 40 °С.

Растворяют остаток в 10 мл н-гексана и переносят на заранее подготовленную колонку с силикагелем. Обмывают концентратор дважды 15 мл н-гексана, перенося гексановый экстракт на колонку. Гексановые экстракты, прошедшие через колонку, отбрасывают.

Элюируют Пропетамфос из колонки 80 мл смеси толуола с диэтиловым эфиром (75 : 25). Элюат из колонки собирают и упаривают досуха при t° = 40 °С. Остаток растворяют в 10 мл толуола или этилацетата и хроматографируют, вводя в хроматограф 2—5 мкл раствора.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Цвет-550» или «Цвет-600» с термоионным детектором.

Неподвижная фаза: Инертон-супер с 3 % OV-17 (0,16—0,20 мм).

Колонка стеклянная длиной 2 м, внутренним диаметром 3 мм.

Температура термостата колонки – 200 °С;

испарителя – 240 °С;

детектора – 340 °С.

Скорость газа-носителя (азота) – 50 мл/мин.

Скорость водорода – 17 мл/мин.

Скорость воздуха – 200 мл/мин.

Показания аттенюатора – 16×10^9 Ом.

Скорость движения диаграммной ленты – 240 мм/ч.

Хроматографируемый объем – 1—5 мкл.

Абсолютное время удерживания – 2 мин 27 с.

Линейный диапазон детектирования – 0,05—0,5 нг.

Пробы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/мл, разбавляют этилацетатом или толуолом.

Альтернативная хроматографическая фаза: Инертон-супер с 5 % ХЕ-60 (0,16—0,20 мм).

Колонка стеклянная длиной 2 м, внутренним диаметром 2 мм.
Температура термостата колонки – 180 °С.
испарителя – 250 °С;
детектора или
переходной камеры – 360 °С.
Скорость газа-носителя (азота) – 35 мл/мин.
Скорость водорода – 11 мл/мин.
Скорость воздуха – 140 мл/мин.
Показание аттенюатора – 16×10^9.
Хроматографируемый объем – 1—5 мкл.
Абсолютное время удерживания – 3 мин 45 с.
Линейный диапазон детектирования – 0,05—0,5 нг.
Пробы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 1,0 мкг/мл, разбавляют этилацетатом.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Содержание Пропетамфоса в пробах молока и мяса рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{H_0 \cdot m \cdot 100} P, \text{ где}$$

X – содержание Пропетамофоса в пробе, мг/кг;
H_1 – высота пика в образце, мм;
H_0 – высота пика Пропетамфоса в стандарте, мм;
A – концентрация стандартного раствора, мкг/мл;
V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;
m – масса или объем анализируемого образца, г или мл;
P – содержание Пропетамфоса в аналитическом стандарте.

3. Требования техники безопасности

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

Содержание

Определение массовой концентрации йода в пищевых продуктах, продовольственном сырье, пищевых и биологически активных добавках вольтамперометрическим методом: МУК 4.1.1481—03 3

Определение остаточных количеств левомицетина (Хлорамфеникола, Хлормицетина) в продуктах животного происхождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и иммуноферментного анализа: МУК 4.1.1912—04 39

Определение остаточных количеств Пропетамфоса в молоке и мясе методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1918—04 63

gost.e-ecolog.ru