Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 7
МУК 4.1.1449—4.1.1452—03

Издание официальное

Москва • 2006

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 7
МУК 4.1.1449—4.1.1452—03

ББК 51.23+51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006.—48 с.—Вып. 4.—Ч. 7.

ISBN 5—7508—0649—9

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (чл.-корр. РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева (проф. В. А. Калинин, к. хим. н. А. В. Довгилевич); при участии Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России (А. П. Веселов). Разработчики методик указаны в конце каждой из них.

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по госсанэпиднормированию при Минздраве России.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены с 30 июня 2003 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.23+51.21

Редакторы Л. С. Кучурова, Е. И. Максакова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 10.10.06

Формат 60x88/16 Печ. л. 3,0

Тираж 500 экз. Заказ 34

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

Оригинал-макет подготовлен к печати Издательским отделом
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
113105. Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел. 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2006
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006

Содержание

Определение остаточных количеств ацифлуорфена в почве, воде, зерне и масле сои хроматографическими методами 4
Определение остаточных количеств биспирибака-натрия в почве, воде, зерне и зеленой массе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 17
Определение остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита в воде, семенах и масле подсолнечника газохроматографическим методом 26
Определение остаточных количеств дикамбы в зерне, соломе, зеленой массе растений, воде и почве газожидкостной и тонкослойной хроматографией 38

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 июня 2003 г.
Дата введения – 30 июня 2003 г.

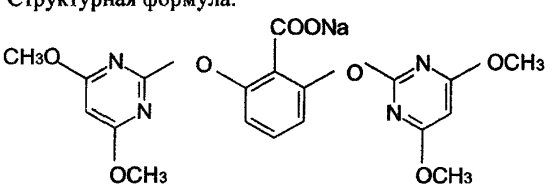
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств концентрации биспирибака-натрия в почве, воде, зерне и зеленой массе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1450—03

1. Вводная часть

Фирма-производитель: «Кумиаи Кемикал Индастри Ко, ЛТД» (Япония).
Торговое название: KIH-2023.
Название действующего вещества по ИСО: Биспирибак-натрия.
Название действующего вещества по ИЮПАК: 2,6-бис[(4,6-диметоксипиримидин-2-ил)окси]бензоат натрия.
Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{19}H_{17}N_4NaO_8$.
Молекулярная масса: 452,36.
Удельная масса при 20 °С: 0,0795.
Агрегатное состояние: порошок.
Цвет: белый.
Температура плавления: 219,5 °С.
Летучесть (давление пара) при 25 °С: $5{,}04 \times 10^{-6}$ мПа.
Растворимость в воде при 25 °С: 73,3 г/л.

Растворимость в органических растворителях: хорошо растворим в метаноле, слабо растворим в ацетоне, еще слабее в дихлорметане, этилацетате и н-гексане.

Коэффициент распределения октанол/вода: –1,03 (23 °С).

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

Препарат проходит предрегистрационные испытания. Гигиенические нормативы применения биспирибак-натрия в России не установлены.

Фирмой предложен ПДК (в воде) = 0,001 ppm.

Период полуразложения в почве 31,1—133 сут. (в зависимости от почвенно-климатических условий).

Область применения препарата

KIH-2023 – послевсходовый гербицид с широким спектром применения. KIH-2023 обладает превосходной эффективностью при нанесении на листву по отношению к злаковым травам, осоковым и многим широколистным видам.

KIH-2023 ингибирует активность фермента, ацетолактатсинтазы, блокируя биосинтез алифатических аминокислот с разветвленной углеродной цепью. Гербицид уничтожает чувствительные растения путем замедления их роста с последующим хлорозом, некрозом и гибелью растений. KIH-2023 обладает селективностью по отношению к рису и эффективно уничтожает куриное просо.

Этот препарат проходит предрегистрационные испытания на заливном рисе с нормой расхода менее 150 г/га препаративной формы.

2. Методика определения остаточных количеств биспирибак-натрия в почве, воде, зерне и зеленой массе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на определении биспирибак-натрия с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии после его экстракции из воды, растительного материала и почвы водным раствором ацетонитрила. В дальнейшем проводят переэкстракцию с помощью метиленхлорида и очистку экстракта смесью гексан:этилацетат на концентрирующем патроне «Диапак-Силикагель».

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода приведена в табл.

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен и может применяться для анализа биспирибак-натрия в почве, воде и растительном материале риса, обрабатываемых другими пестицидами.

Таблица

Метрологическая характеристика метода ($P = 0,95$, $n = 24$)

Субстрат	Анализируемый объект	*Предел обнаружения, мг/кг (мг/л)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/л)	Среднее значение определения, %	Доверительный интервал среднего результата, %	Стандартное отклонение, S, %
Вода	питьевая	0,001	0,001—0,01	95,7	10,97	± 2,24
	открытый водоем (пруд)	0,001	0,001—0,01	93,7	8,36	± 1,70
Почва	дерново-подзолистая	0,01	0,01—0,10	84,0	9,64	± 1,96
	чернозем выщелоченный	0,01	0,01—0,10	80,3	9,61	± 1,96
Растения	зерно риса	0,01	0,01—0,10	82,3	13,02	± 2,65
	солома риса	0,01	0,01—0,10	87,7	8,56	± 1,74

* Предел обнаружения в хроматографируемом объеме – 2 нг.

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

КІН-2023 с содержанием 99,8 % д.в., аналитический стандарт № SQ-804-2	
Деионизированная вода	ГОСТ 7602—72
Метанол LiChrosolv, gradient grade N6007, Merck	
96 % уксусная кислота, ледяная	ГОСТ 61—75
Кислота хлороводородная, 1 н раствор, хч	ГОСТ 3118—77
Ацетонитрил, Merck (для ВЭЖХ)	
Ацетонитрил, ч, Харьков	МРТУ 6-09-6448—69
Н-гексан, ч, Новочеркасск	ТУ-6-09-4521—77
Натрий серно-кислый безводный, ч	ГОСТ 4166—76
Метиленхлорид, хч	ТУ 6-09-06-856—77
Натрий хлористый	ТУ-6-09-1252—76
Калий фосфорно-кислый двузамещенный, 12-водный, art.6346, Merck	

Калий фосфорно-кислый однозамещенный, art. 6579, Merck	
Бумажные фильтры «синяя лента» диаметром 11,0 см, обеззоленные	ТУ 6-09-1678—86
Универсальная индикаторная бумага, Merck	

2.2.2. Посуда и оборудование

Высокоэффективный жидкостный хроматограф «Altex» с ультрафиолетовым детектором «Spectroflow 757» или другой аналогичного типа	
Стальная колонка для ВЭЖХ Ultrasphere ODS (4,6 × 250 мм), 5 мкм	
Самописец, модель ВД40 Kipp & Zonen или другой аналогичного типа	
Баня водяная CH-9230 FLAWIL/SG, Buchi или другая аналогичного типа	
Весы аналитические FX-40 A &D Company или другие аналогичного типа	
Весы лабораторные технические ВЛТК-500 или другие аналогичного типа	
Встряхиватель механический или другой аналогичного типа	ТУ 64-1-1081—73
Ротационный испаритель, модель Rotavapor R110, Buchi или другой аналогичного типа	
Иономер модель И-135, ТЗАП	
Сито с диаметром отверстий 1 мм	
Воронки делительные на 250 мл	ГОСТ 10054—75
Колбы конические плоскодонные на 250 мл и 500 мл, КШП-100, КШП-250	ГОСТ 10394—72
Колбы мерные на 50 и 100 мл	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные на 25 и 100 м	ГОСТ 1770—74Е
Концентраторы грушевидные (конические) НШ29 КГУ-100-14/19, ТС	ГОСТ10394—72
Концентрирующие патроны «ДИАПАК-Силикагель» (черный-черный) АО БиоХимМак отд. Хроматографии	ТУ 4215-002-05451931—94
Микрошприц Hamilton company на 50 и 100 мкл или другой аналогичного типа	
Пипетка цифровая на 5,0 мл Aldrich Chemical Company, Wheaton или другая аналогичного типа	
Стаканы химические, стеклянные на 100 мл	ГОСТ 6236—72
Стеклянные палочки	

Скальпель или нож

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

В колбу на 1 000 мл вносят 700 мл бидистиллированной воды, добавляют 300 мл ацетонитрила и 1 мл уксусной кислоты. Полученный раствор ацетонитрил–вода–уксусная кислота (30 : 70 : 1 по объему) фильтруют и дегазируют.

2.3.2. Кондиционирование колонки

Промыть колонку для ВЭЖХ системой ацетонитрил–вода–уксусная кислота (30 : 70 : 1 по объему) в течение 60 мин при скорости подачи подвижной фазы 1,0 мл/мин. Включить детектор и подождать стабилизации базовой линии (10—20 мин).

2.3.3. Активизация концентрирующего патрона «Диапак-Силикагель»

Патрон «Диапак-Силикагель» (черный-черный) промывают 10 мл метанола с помощью шприца с разъемом типа Люер.

Примечание. Профиль вымывания может меняться при использовании новой партии концентрирующих патронов и растворителей.

2.3.4. Приготовление буферного раствора (1/20 М двузамещенного фосфорнокислого калия и 1/20 М однозамещенного фосфорно-кислого калия)

17,9 г $K_2HPO_4 \times 12H_2O$ и 6,9 г $KH_2PO_4 \times H_2O$ переносят в мерную колбу на 1 000 мл и добавляют 600-700 мл бидистиллированной воды. Затем перемешивают до полного растворения внесенного вещества и доводят водой до метки.

2.3.5. Приготовление насыщенного раствора хлорида натрия

В колбу объемом 500 мл переносят 300 мл бидистиллированной воды и добавляют хлористый натрий порциями при тщательном перемешивании до получения насыщенного раствора.

2.3.6. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают 0,01 г биспирибак-натрия (содержащего 99,8 % д.в.) в мерной колбе на 100 мл. Навеску растворяют в метаноле и доводят объем до метки метанолом (стандартный раствор № 1, концентрация 100 мкг/мл). Раствор хранится в холодильнике не более 120 суток.

Методом последовательного разбавления подвижной фазой для ВЭЖХ раствора № 1 готовят стандартные растворы КПН-2023 (используются в день проведения анализа) с концентрацией 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 мкг/мл, которые могут храниться в холодильнике не более 20 суток.

При изучении полноты открываемости биспирибак-натрия в модельных матрицах используют ацетоновые растворы вещества.

2.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа вводят по 100 мкл рабочего раствора биспирибак-натрия с концентрацией 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 мкг/мл. Проводят не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение высоты хроматографического пика для каждой концентрации.

По полученным данным строят градуировочный график зависимости высоты хроматографического пика в мм от концентрации биспирибак-натрия в растворе в мкг/мл.

2.5. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утв. 21.08.79 № 2051-79.

Пробы воды в стеклянной или инертной полиэтиленовой таре хранят при температуре 0—4 °С в течение не более 7 сут., для длительного хранения пробы замораживаются и хранятся при –18 °С. Отобранные пробы соломы и зерна риса подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при температуре 0—4 °С. Для длительного хранения пробы почвы подсушивают при комнатной температуре в отсутствии прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, солому риса нарезают кусочками 1 × 1 см, зерно риса измельчают на лабораторной мельнице.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Экстракция гербицида из анализируемой пробы

2.6.1.1. Вода.

Образец воды объемом 250 мл фильтруют через двойной складчатый фильтр (синяя лента) в делительную воронку на 500 мл и добавляют 50 мл метиленхлорида, 50 мл буферного раствора (1/20 М двузамещенного фосфорно-кислого калия и 1/20 М однозамещенного фосфорнокислого калия), 5 мл раствора хлористого натрия. Встряхивают две минуты. Переносят метиленхлорид из первой во вторую делительную воронку и прибавляют 50 мл буферного раствора (1/20 М двузамещен-

ного фосфорнокислого калия и 1/20 М однозамещенного фосфорнокислого калия), 5 мл раствора хлористого натрия. После встряхивания и разделения смеси, буферные растворы объединяют и подкисляют до pH 1,0 1 н HCl. К полученному экстракту добавляют 200 мл этилацетата и 5 мл NaCl, встряхивают и фильтруют в колбу на 500 мл через фильтр с безводным сульфатом натрия. Процедуру повторяют дважды со 100 мл этилацетата и 2 мл NaCl. Полученный объем экстракта выпаривают до 1 мл (при 45 °С на роторном испарителе) и переносят на активированный концентрирующий патрон «Диапак-Силикагель». Патрон промывают раствором гексан–этилацетат (5 : 1) со скоростью 2 капли в секунду. Первые 5 мл элюата отбрасывают, следующие 100 мл собирают в концентратор на 250 мл. Элюат выпаривают на вакуумном роторном испарителе при температуре не выше 40 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 4 мл 30 %-го водного ацетонитрила (п. 2.3.1).

Анализируют биспирибак-натрий на высокоэффективном жидкостном хроматографе (п. 2.7).

2.6.1.2. Почва.

Навеску почвы 50 г (в пересчете на воздушно-сухую почву) помещают в коническую колбу на 500 мл, приливают 100 мл смеси 80 %-го водного ацетонитрила. Биспирибак-натрий экстрагируют при перемешивании в течение 1 ч. Экстракт фильтруют через двойной складчатый фильтр (синяя лента) в колбу на 500 мл. Экстракцию повторяют со 100 мл растворителя в течение 20 мин. Экстракты объединяют и при температуре 45 °С, используя роторный вакуумный испаритель, выпаривают до 100 мл. Остаток экстракта переносят в делительную воронку на 500 мл и добавляют 100 мл метиленхлорида, 100 мл буферного раствора (1/20 М двузамещенного фосфорно-кислого калия и 1/20 М однозамещенного фосфорно-кислого калия), 5 мл раствора хлористого натрия. Встряхивают две минуты. Переносят метиленхлорид из первой во вторую делительную воронку и прибавляют 50 мл буферного раствора, 5 мл раствора хлористого натрия. После встряхивания и разделения смеси, буферные растворы объединяют и подкисляют до pH 1,0 1 н HCl. К полученному экстракту добавляют 100 мл этилацетата и 5 мл NaCl, встряхивают и фильтруют через фильтр с безводным сульфатом натрия в колбу на 500 мл. Процедуру повторяют дважды. Полученный объем экстракта выпаривают до 1 мл (при 45 °С на роторном испарителе) и переносят на активированный концентрирующий патрон «Диапак-Силикагель». Далее процедура анализа биспирибак-натрия в почве аналогична описанной выше п. 2.6.1.1.

2.6.1.3. Зерно и солома риса.

Измельченную растительную пробу (зерно – 25 г, солома – 15 г) помещают в коническую колбу на 500 мл и приливают 100 мл смеси 80 %-го водного ацетонитрила. Биспирибак-натрий экстрагируют при перемешивании в течение 40 мин. Экстракт фильтруют через двойной складчатый фильтр (синяя лента) в колбу на 500 мл. Экстракцию повторяют со 100 мл растворителя в течение 20 мин. Экстракты объединяют и при температуре 45 °С, используя роторный вакуумный испаритель, выпаривают до 100 мл. Остаток экстракта переносят в делительную воронку на 500 мл и добавляют 50 мл метиленхлорида, 50 мл буферного раствора (1/20 М двузамещенного фосфорно-кислого калия и 1/20 М однозамещенного фосфорно-кислого калия), 5 мл раствора хлористого натрия. Встряхивают две минуты. Переносят метиленхлорид из первой во вторую делительную воронку и прибавляют 50 мл буферного раствора, 5 мл раствора хлористого натрия. После встряхивания и разделения смеси, буферные растворы объединяют и подкисляют до pH 1,0 1 н HCl. К полученному экстракту добавляют 100 мл этилацетата и 5 мл NaCl, встряхивают и фильтруют через фильтр с безводным сульфатом натрия в колбу на 500 мл. Процедуру повторяют дважды. Полученный объем экстракта упаривают до 1 мл (при 45 °С на вакуумном роторном испарителе) и переносят на активированный концентрирующий патрон «Диапак-Силикагель». Далее процедура анализа биспирибак-натрия в соломе и зерне риса аналогична описанной выше п. 2.6.1.1.

2.7. Условия хроматографирования

Стальная колонка для ВЭЖХ Ultrasphere ODS, с внутренним диаметром 4,6 мм и длиной 250 мм, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода–уксусная кислота (30 : 70 : 1 по объему).

Скорость потока элюента – 1 мл/мин.

Тип детектора – ультрафиолетовый «Spectroflow 757»

Объем вводимой пробы – 100 мкл.

Время удерживания – 21 мин.

Линейный диапазон детектирования – 2—20 нг.

Самописец, модель ВД40 Kipp & Zonen.

Скорость движения ленты самописца – 1 мм/мин.

Рабочая длина волны – 246 нм.

Чувствительность – 0,02 ед. абсорбции на шкалу.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту пика. Образцы, дающие пики большие, чем

стандартный раствор с концентрацией 2,0 мкг/мл, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

2.8. Обработка результатов анализов

Содержание биспирибак-натрия в пробах воды, почвы, зерне и зеленой массе риса рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X – содержание вещества в пробе, мг/кг;

H_1, H_0 – высота пика образца и стандарта соответственно, 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 биспирибак-натрия в аналитическом стандарте, мкг/мл.

3. Требования к технике безопасности

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

4. Разработчики

Ю. Я. Спиридонов, Г. Е. Ларина.

143050, Московская обл., Одинцовский р-он, п/о Большие Вяземы, ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии Россельхозакадемии, отдел гербологии.

Телефон \Факс: (096)33-4-11-07.

E-mail: galina_larina@vniif.rosmail.com.

gost.e-ecolog.ru