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 3
Часть 1
МУК 4.1.1387—4.1.1390—03

Издание официальное

Минздрав России
Москва • 2004

gost.e-ecolog.ru

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний

Выпуск 3
Часть 1
МУК 4.1.1387—4.1.1390—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 госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.— Вып. 3.—Ч. 1.—43 с.

ISBN 5—7508—0471—2

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 16 марта 2003 г.

4. Введены с 30 июня 2003 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.23+51.21

ISBN 5—7508—0471—2

© Минздрав России, 2004
© Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004

Содержание

Определение остаточных количеств ацетохлора в воде, почве, клубнях картофеля, зерне кукурузы, зеленой массе кукурузы и сои, а также в семенах и масле подсолнечника, рапса и сои: МУК 4.1.1387—03 4

Определение остаточных количеств иодосульфурон-метил-натрия в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зеленой массе и зерне кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1388—03 16

Измерение концентраций иодосульфурон-метил-натрия в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1389—03 27

Определение остаточных количеств имидаклоприда в воде, почве, огурцах, томатах, сахарной свекле, картофеле, перце и баклажанах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1390—03 34

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 имидаклоприда в воде, почве, огурцах, томатах, сахарной свекле, картофеле, перце и баклажанах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1390—03

1. Вводная часть

Фирма-производитель: БайерКропСайенс (Германия).

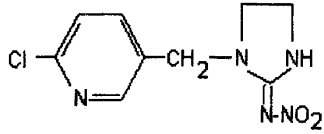
Торговое название: КОНФИДОР, ГАУЧО, АДМИР.

Действующее вещество: имидаклоприд (NTN 33893).

1-(6-хлор-3-пиридилметил)-N-нитроимидазолидин-2-илиденамин (ИЮПАК).

1-I(6-хлор-3-пиридинил)метилI-N-нитро-2-имидазолидинимин (С.А.).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_9H_{10}ClN_5O_2$ М. м.: 255,7

Бесцветное кристаллическое вещество со слабым характерным запахом.

Температура плавления: 144 °С.

Давление паров при 20 °С: 4×10^{-7} мПа.

Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 0,57.

Растворимость (г/л) при 20 °С: вода – 0,61; гексан – менее 0,1; дихлорметан – 55; изопропанол – 1,2; толуол – 0,68.

Вещество устойчиво к гидролизу при pH 5—11 ($T_{1/2}$ более 1 года).

Имидаклоприд относительно слабо передвигается по почвенному профилю и очень быстро разрушается в почве под действием света и микрофлоры. В растениях соединение постепенно метаболизируется.

Краткая токсикологическая характеристика.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 450 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – 69 мг/м^3 воздуха.

Имидаклоприд не вызывает раздражения слизистой оболочки кожи у кроликов. LC_{50} для рыб 211 мг/л (96 ч).

Имидаклоприд практически нетоксичен для птиц, дождевых червей, водорослей, но опасен для пчел при прямом контакте.

Гигиенические нормативы: ОДК в почве – 0,1 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,03 мг/дм^3; МДУ в картофеле – 0,05, огурцах и томатах – 0,1 мг/кг.

Область применения препарата.

Имидаклоприд – инсектицид нервно-паралитического действия, эффективно уничтожает листовую тлю, белокрылку, минеров, трипсов, колорадского жука, долгоносиков на хлопчатнике, рисе, картофеле, кукурузе, сахарной свекле, овощных культурах, цитрусовых, косточковых и семечковых плодовых в течение вегетационного периода. Вещество обладает системной активностью и может использоваться для обработки почвы и надземных органов растений.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ в виде препарата Гаучо 600 FS (600 г имидаклоприда в 1 л препарата), предназначенного для протравливания семян и посадочного материала ряда культур, и препарата Конфидор, ВРК (200 г имидаклоприда в 1 л препарата), рекомендованного для обработки вегетирующих растений.

2. Методика определения остаточных количеств имидаклоприда в воде, почве, огурцах, томатах, сахарной свекле, картофеле, перце и баклажанах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на определении имидаклоприда методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после извлечения препарата из воды дихлорметаном, из почвы и растительного материала водным ацетоном,

очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании сахарной свеклы, картофеля, а также огурцов, томатов, перца и баклажанов открытого и защищенного грунта.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Таблица

Метрологическая характеристика метода

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$					
	предел обнаружения, мг/дм^3, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S, %	относительное стандарт. отклонение DS, %	доверительный интервал среднего, %
Вода	0,0004	0,0004—0,004	84,9	3,7	1,7	± 3,5
Почва	0,02	0,02—0,2	75,6	3,8	1,7	± 3,5
Огурцы	0,02	0,02—0,2	86,0	6,7	3,0	± 6,3
Томаты	0,02	0,02—0,2	82,1	4,8	2,2	± 4,5
Свекла сахарная	0,02	0,02—0,2	81,5	3,8	1,7	± 3,5
Картофель	0,02	0,02—0,2	88,3	5,4	2,4	± 5,0
Перец	0,02	0,02—0,2	81,9	3,7	1,6	± 3,7
Баклажаны	0,02	0,02—0,2	83,2	4,0	1,8	± 4,0

2.2. Реактивы, растворы, материалы

Имидаклоприд с содержанием д.в. 99,6 % (Байер, Германия)

Ацетон	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил, ч	ТУ 6-09-3534—82
Вода бидистиллированная	ГОСТ 7602—72
Гексан, ч	ТУ 6-09-3375—78
Калия перманганат	ГОСТ 20490—75
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77

Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Натрий двууглекислый	ГОСТ 83—79
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328—77
Натрия сульфат безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Фосфора пентоксид, ч	МРТУ 6-09-5759—69
Этилацетат	ГОСТ 22300—76
Элюент № 1 для колоночной хроматографии: смесь гексан–этилацетат (4 : 6, по объему)	
Элюент № 2 для колоночной хроматографии: смесь гексан–этилацетат (2 : 8, по объему)	
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил–вода (25 : 75, по объему)	
Силикагель для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) 1 степени активности или силикагель КСК (60—100 меш)	
Стекловата	
Целит 535 (2—15 мкм) /Серва, Германия/ или аналогичный	
Фильтры бумажные «синяя лента»	ТУ 6-09-1678—77

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором фирмы Altex (США) или аналогичный	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, заполненная Диасорбом 130-С10CN или Диасорбом 130-С16 Т (ЗАО БиоХимМак, РФ; 119899, Москва, Ленинские горы)	
Шприц для ввода образцов в жидкостный хроматограф	
Весы аналитические типа ВЛР-200	ГОСТ 19401—74
Водоструйный насос	ГОСТ 10696—75
Встряхиватель механический	ТУ 64-1-1081—73
Гомогенизатор	МРТУ 42-1505—63
Ротационный испаритель тип ИР-1М	ТУ 25-11-917—76
Сито с диаметром отверстий 1 мм	
Баня водяная	ТУ 46-22-603—75
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147—73
Воронки делительные, вместимостью 100, 250 мл	ГОСТ 25336—82

Воронки для фильтрования стеклянные	ГОСТ 8613—75
Колба Бунзена	ГОСТ 5614—75
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 100 и 250 мл	ГОСТ 9737—70
Колбы конические с притертыми пробками, вместимостью 250 мл	ГОСТ 25336—82
Колбы мерные, вместимостью 25, 50, 100 и 1 000 мл	ГОСТ 1770—74
Колбы грушевидные, вместимостью 100 и 250 мл	ГОСТ 25336—82
Пипетки мерные, вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл	ГОСТ 20292—74Е
Пробирки градуированные с притертыми пробками, вместимостью 5 и 10 мл	ГОСТ 10515—75
Цилиндры мерные, вместимостью 50, 100, 250 и 500 мл	ГОСТ 1770—74

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Отобранные пробы почвы, сахарной свеклы, огурцов, картофеля, томатов, перца и баклажанов хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более одного дня. Для длительного хранения пробы почвы доводят до воздушно-сухого состояния и хранят в холодильнике; пробы растительного материала хранят до анализа в морозильной камере при температуре –18 °С. Пробы воды хранят при температуре не выше 4 °С в течение 3 дней, при температуре –18 °С – в течение месяца.

Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, а растительный материал измельчают.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с типовыми методиками. Гексан встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока свежая порция кислоты не перестанет окрашиваться. Затем гексан последовательно промывают водой, 2 %-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют.

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

Ацетонитрил сушат над пентаксидом фосфора и перегоняют; отогнанный растворитель повторно перегоняют над углекислым калием.

Этилацетат промывают равным объемом 5 %-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

Отмеряют 250 мл ацетонитрила, переносят в колбу на 1 000 мл, добавляют 750 мл бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют, дегазируют.

2.5.3. Кондиционирование колонки

Промывают колонку для ВЭЖХ смесью ацетонитрил–вода (25 : 75, по объему) в течение 30 мин при скорости подачи растворителя 0,6 мл/мин. Включают детектор и ждут стабилизации базовой линии (5—15 мин).

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор имидаклоприда с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 99,6 % д.в., в ацетонитриле в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранят в холодильнике при температуре –12 °С не более месяца.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,04 , 0,08 , 0,20 и 0,40 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора имидаклоприда соответствующим последовательным разбавлением подвижной фазой для ВЭЖХ (п. 2.5.2). Рабочие растворы хранят в холодильнике не более одного дня.

При изучении полноты открывания имидаклоприда в модельных матрицах используются ацетонитрильные растворы вещества.

2.5.5. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 50 мкл рабочего стандартного раствора имидаклоприда с концентрацией 0,04; 0,08; 0,20 и 0,40 мкг/мл. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение высоты хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты хроматографического пика в мм от концентрации имидаклоприда в растворе в мкг/мл.

2.5.6. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1,8 см вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 20 мл смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колон-

ку последовательно промывают 50 мл смеси гексан–этилацетат (2 : 8, по объему) и 30 мл смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.7. Проверка хроматографического поведения имидаклоприда на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора имидаклоприда с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 3 мл элюента № 1 и наносят на колонку. Промывают колонку 50 мл элюента № 1 (гексан–этилацетат, 4 : 6), затем 60 мл элюента № 2 (гексан–этилацетат, 2 : 8) со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 2.7.

Фракции, содержащие имидаклоприд, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 4 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.7. Рассчитывают содержание имидаклоприда в элюате, определяют полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для очистки экстракта объем элюента.

Примечание. Профиль вымывания имидаклоприда может меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.6. Описание определения

2.6.1. Экстракция имидаклоприда

2.6.1.1. Вода. 100 мл предварительно отфильтрованной воды помещают в делительную воронку емкостью 250 мл и обрабатывают 10 мл гексана при встряхивании в течение 1 мин. Гексановый слой отбрасывают и водную фазу экстрагируют дихлорметаном трижды (30 + 30 + 20 мл). Объединенную органическую фазу промывают в делительной воронке 20 мл 0,05 М раствора K_2CO_3, а затем пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают на роторном вакуумном испарителе досуха при температуре 30 °С. Сухой остаток растворяют в 1 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют по п. 2.7.

2.6.1.2. Почва. Навеску (20 г) воздушно-сухой почвы помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, приливают 100 мл смеси ацетон–вода (3 : 1, по объему) и суспензию перемешивают в течение 1 ч на аппарате для встряхивания. Добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Осадок переносят в колбу, приливают 50 мл указанной выше смеси, перемешивают 30 мин на аппарате для встряхивания и суспензию фильтруют через бумажный фильтр. Из объединенного экстракта отбирают аликвоту раствора (око-

ло 35 мл), эквивалентную 5 г почвы. Дальнейшую очистку проводят по п.п. 2.6.2 и 2.6.3.

2.6.1.3. Сахарная свекла, картофель, огурцы, томаты, перец, баклажаны. К навеске (25 г) измельченного материала добавляют 125 мл смеси ацетон–вода (3 : 1, по объему) и гомогенизируют 3 мин при 10 000 об./мин. К суспензии добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу на 250 мл. Осадок на фильтре промывают 50 мл указанного выше водного ацетона. Из объединенного экстракта отбирают аликвоту раствора (около 35 мл), эквивалентную 5 г растительной ткани. Дальнейшую очистку проводят по п.п. 2.6.2 и 2.6.3.

2.6.2. Очистка экстракта

Отобранные аликвоты растительного (из п. 2.6.1.3) и почвенного (из п. 2.6.1.2) экстрактов упаривают до объема 5—7 мл на роторном испарителе при температуре 30 °С. Водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл, приливают 40 мл бидистиллированной воды, 10 мл гексана и смесь встряхивают в течение 1 мин. Органический слой отбрасывают. Обработку водной фазы гексаном повторяют еще раз. Затем водную фазу трижды обрабатывают дихлорметаном (30 + 30 + 20 мл) при встряхивании. Объединенный дихлорметановый экстракт промывают в делительной воронке 20 мл 0,05 М раствора K_2CO_3, а затем пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30 °С.

2.6.3. Очистка на колонке с силикагелем

Остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п. 2.6.2 экстрактов почвы или растительного материала, количественно переносят тремя порциями (1 мл) смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему) в подготовленную хроматографическую колонку (п. 2.5.6). Колонку промывают 30 мл смеси гексан–этилацетат (4 : 6, по объему), которые отбрасывают. Имидаклоприд элюируют 50 мл смеси гексан–этилацетат (2 : 8, по объему) и собирают элюат в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2,5 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 2.7.

Примечание. При использовании новой партии сорбента или растворителей проводится проверка хроматографического поведения имидаклоприда на колонке с силикагелем.

2.7. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Altex (США).

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасорб 130-С10CN, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (25 : 75, по объему).

Скорость потока элюента: 0,6 мл/мин.

Рабочая длина волны: 268 нм.

Чувствительность: 0,02 ед. абсорбции на шкалу.

Объем вводимой пробы: 50 мкл.

Время выхода имидаклоприда: 6 мин 45 с.

Линейный диапазон детектирования: 2—20 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,4 мкг/мл, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-С16 Т (5 мкм).

Подвижная фаза: метанол–вода (50 : 50, по объему).

Скорость потока элюента: 0,7 мл/мин.

Время выхода имидаклоприда: 5 мин 20 с.

2.8. Обработка результатов анализа

Содержание имидаклоприда рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X – содержание имидаклоприда в пробе, мг/кг или мг/дм^3;

H_1 – высота пика образца, мм;

H_0 – высота пика стандарта, мм;

A – концентрация стандартного раствора имидаклоприда, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m – масса или объем анализируемой части образца, г или мл (для воды – 100 мл; для почвы и растительного материала – 5 г).

3. Требования техники безопасности

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

4. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335—95. ГСИ «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

5. Разработчики

Макеев А. М., к. биол. н.; Дубовая Л. В.

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20.

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

Сборник методических указаний

Редакторы Акопова Н. Е., Барабанова Т. Л., Кожока Н. В., Максакова Е. И.
Технический редактор Ломанова Е. В.

Подписано в печать 24.03.04

Формат 60x88/16 **Печ. л. 2,75**
Тираж 3000 экз. **Заказ 29**

Министерство здравоохранения Российской Федерации
101431, Москва, Рахмановский пер., д. 3

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован Издательским отделом
Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России
125167, Москва, проезд Аэропорта, 11.
Отделение реализации, тел. 198-61-01

gost.e-ecolog.ru