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 4.1.2062—4.1.2074—06

Издание официальное

Москва, 2009

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 — 147с.

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. 9,25

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

Содержание

1. Методические указания по определению остаточных количеств пиридабена в воде, почве и яблоках методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2062-06.....4
2. Методические указания по определению остаточных количеств триасульфурона в зерне хлебных злаков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2063-06.....15
3. Методические указания по определению остаточных количеств хизалофоп-п-этила в зерне гороха, семенах и масле подсолнечника по основному метаболиту хизалофоп-п кислоте методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2064-06.....22
4. Методические указания по определению остаточных количеств Калиевой соли сульфометурон-метила по сульфометурон-метилу в воде и почве методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2065-06.....33
5. Методические указания по определению остаточных количеств тебуконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2067-06.....45
6. Методические указания по определению остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов клетодим сульфона и клетодим сульфоксида в масле сои методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2066-06.....52
7. Методические указания по определению остаточных количеств Пендиметалина в зерне зерновых колосовых культур, риса, кукурузы, растительных маслах, зеленой массе кукурузы, рисовой соломке методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2068-06.....63
8. Методические указания по определению остаточных количеств дитианона в винограде, виноградном соке, персиках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2069-06.....77
9. Методические указания по определению остаточных количеств Диквата в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2070-06.....88
10. Методические указания по определению остаточных количеств Трифорина в яблоках, винограде, яблочном и виноградном соках методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2071-06.....99
11. Методические указания по определению остаточных количеств бифентрина в воде, огурцах, томатах и бифентрина и малатиона в зерне пшеницы и риса методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2072-06.....109
12. Методические указания по измерению концентраций дикамбы в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2073-06...125
13. Методические указания по измерению концентраций Бромадиолона в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2074-06.....136

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

Г. Онищенко

« 5 » мая 2006 г.

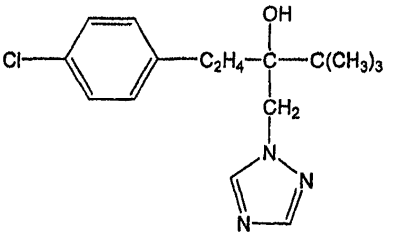
МУК 4.1. 2047-06

Дата введения: с 1 июля 2006 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ТЕБУКОНАЗОЛА В СЕМЕНАХ, МАСЛЕ И ЗЕЛЕНОЙ МАССЕ РАПСА МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1. Вводная часть

Фирма производитель: Август
Торговое наименование: ВИАЛ-ТТ, Бункер, Колосаль.
Действующее вещество: тебукопазол (ISO).
Структурная формула:



(RS)-1р-хлорфенил-4,4-диметил-3-(1H-1,2,4-триазол-1-ил метил)пентан-3-ил (IUPAC).
Брутто формула: $C_{16}H_{22}ClN_3O$
Мол. масса: 307.8.
Химически чистый препарат - бесцветное кристаллическое вещество.
Температура плавления: 105°С
Давление паров при 20°С - $1{,}7 \times 10^{-3}$ mPa
Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 3,7 (20°С)
Растворимость в воде при 20°С – 36 мг/дм^3 (pH 5-9);
гексане < 0.1, изопропаноле, толуоле – 5-100, дихлорметане > 200 (в г/дм^3 при 20°С).
Вещество стабильно на свету, при повышенной температуре и гидролизу в чистой воде.
Класс токсичности по ВОЗ – III, ЕПА – II.

Острая оральная токсичность (LD_{50}) для крыс 4000 мг/кг, дермальная › 5000 мг/кг.
Гигиенические нормативы для рапса: МДУ (семена и масло) – в стадии разработки.
Область применения: системный фунгицид широкого спектра действия для борьбы с болезнями листьев и колосьев зерновых (фузариоз, септориоз, ржавчина, мучнистая роса и др.), серой гнилью виноградной лозы, некоторыми заболеваниями сои, рапса, подсолнечника. Используется как протравитель семян на зерновых.

Рекомендуемый ВМДУ тебуконазола в семенах и масле рапса 0,2 мг/кг.

2. Методика определения тебуконазола в семенах, масле и зеленой массе рапса методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Область применения и принцип метода

Настоящий документ устанавливает методику определения остаточных количеств тебуконазола в семенах и зеленой массе рапса в диапазоне концентраций 0.05 -0.5 мг/кг, в массе рапса 0.1- 1.0 мг/кг.
Методика основана на извлечении тебуконазола из семян, масла и зеленой массы рапса водно-ацетоновым раствором или ацетонитрилом с последующей очисткой *перераспределением между двумя несмешивающимися жидкостями и на колонке* с флорисилом. Количественное определение проводят методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора.

2.1.2. Избирательность метода

Избирательность метода обеспечивается очисткой экстрактов анализируемых проб и сочетанием условий хроматографирования. Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Объект анализа	Предел обнаружения мг/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Среднее значение определения, % (для каждого объекта n=24)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, n=24, P=0.95
Зеленая масса	0.05	0.05 – 0.5	83.4	5.0	4.4
Семена	0,05	0,05 – 0,5	77.6	5.5	4.6
Масло	0,1	0,1- 1.0	77.4	6.7	5.1

Таблица 2

Полнота определения тебуконазола в растениях, семенах и масле рапса (N=5 для каждой концентрации)

Среда	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, S, мг/кг	Доверительный интервал, (P=0.95, n=6),%	Полнота определения, %
Семена	0,05	0.0380	$8.4 \cdot 10^{-3}$	5.8	76.0
	0,1	0.0768	$1.4 \cdot 10^{-2}$	5.0	76.8
	0,2	0.1642	$3.2 \cdot 10^{-2}$	6.0	82.1
	0,5	0.3764	$5.7 \cdot 10^{-2}$	5.1	75.3
Среднее					77.6
Масло	0,1	0.0763	$2.1 \cdot 10^{-2}$	6.9	76.3
	0,2	0.0148	$3.7 \cdot 10^{-2}$	6.8	74.0
	0,5	0.0401	$7.2 \cdot 10^{-2}$	6.7	80.2
	1.0	0.792	$7.0 \cdot 10^{-2}$	6.3	79.2
Среднее					77.4
Растение	0.05	0.0398	$7.6 \cdot 10^{-3}$	5.4	79.6
	0.1	0.0896	$1.2 \cdot 10^{-2}$	5.0	89.6
	0.2	0.1767	$3.0 \cdot 10^{-2}$	4.8	88.4
	0.5	0.3802	$4.8 \cdot 10^{-2}$	4.8	76.0
Среднее					83.4

2.2. Реактивы и материалы.

Аналитический стандарт тебуконазола 99.6%
Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79.
Ацетонитрил, х.ч., ТУ 6-09-3534-87.
Азот газообразный в баллонах с редуктором, ТУ-6-16-40-14-88.
Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.
Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-79.
Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98.
Дихлорметан х.ч., ТУ 2631-019-44493179-98
Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.
Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161-77.
Насадка для колонки: хроматон N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30 (Чехия).
Натрий сернокислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.
Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.
Стекловата.
Флорисил 150–250 μm (Merck, Германия), содержание воды ≤2.5%.
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.
Элюент для колоночной хроматографии №1: гексан-этилацетат (90:10 по объему).
Элюент для колоночной хроматографии №2: гексан-этилацетат (10:90 по объему).

2.3. Приборы и посуда.

Газовый хроматограф Цвет-550 М с термоионным детектором и стеклянной насадочной колонкой, длиной 1м; внутренним диаметром 3 мм, или аналогичный по своим техническим характеристикам.
Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные.
Весы технические ВЛКТ-500, ГОСТ 24104-80.
Мельница лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.
Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836.008.
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.
Микрошприц МШ-10, МШ- 10М, ТУ 2-833-106.
Насос водоструйный, МРТУ 42 861-64.
Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС, ГОСТ 10384-72.
Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29-32 ТС, ГОСТ 10384-72.
Воронки лабораторные В-75-110, ГОСТ 25 336-82.
Воронки делительные ВД-3-500, ГОСТ 8613-75.
Цилиндры мерные на 100 $см^3$, ГОСТ 1774-74.
Колбы мерные на 25, 50, 100 $см^3$, ГОСТ 1770-74.
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$, ГОСТ 22292-74.
Стаканы химические, ГОСТ 25336-82Е.
Колонка стеклянная хроматографическая длиной 25 см, диаметром 10 мм.

2.4. Отбор проб.

Отбор проб производится в соответствии с ГОСТ 10852-86. «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб». Зеленую массу растений замораживают при температуре -18^{0}С и хранят в морозильной камере до анализа.

2.5. Подготовка к определению.
2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей.

Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют.
Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. Для этого 100 мл растворителя испаряют при помощи вакуумного ротационного испарителя при температуре 40°С до объема 1 мл и хроматографируют. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

2.5.2. Кондиционирование колонки.

Перед началом анализа колонку, заполненную хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30, не присоединяя к детектору, кондиционируют в токе инертного газа (азот) при температуре 250^{0}С до получения стабильной нулевой линии.

2.5.3. Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску тебуконазола (50 мг), переносят в мерную колбу на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят до метки (Стандартный раствор с концентрацией 1.0 мг/мл). Градуировочные растворы с концентрациями 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 и 10 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления по объему, используя для разбавления гексан. Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0-4°С в течение 6 месяцев, градуировочные растворы – в течение недели.

Для внесения в образец при определении полноты извлечения используют градуировочные растворы.

2.5.4. Построение градуировочного графика.

Для построения градуировочного графика (высота или площадь пика – концентрация тебуконазола в растворе) в хроматограф вводят по 1 мкл градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют высоты или площади пиков и строят график зависимости среднего значения высоты (площади) пика от концентрации тебуконазола в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.5.5. Подготовка колонки с флорисилом для очистки экстракта.

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты и вносят суспензию 4 г флорисила в 20 мл смеси гексан:этилацетат (1:1, по объему), дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку промывают 20 мл этой же смеси со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.6. Проверка хроматографического поведения тебуконазола на колонке с флорисилом.

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 1 мл стандартного раствора тебуконазола с концентрацией 2 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 мл смеси гексан:этилацетат (1:1) и вносят в колонку. Колбу обмывают еще 2 мл этой же смеси и также вносят в колонку. Затем последовательно промывают колонку 20 мл гексана и 10 мл элюента №1. Далее элюируют тебуконазол 40 мл элюента №2 со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают досуха, остаток растворяют в 1 мл гексана и анализируют на содержание тебуконазола по п. 2.6.4. Фракции, содержащие тебуконазол, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 1 мл гексана и анализируют по п. 2.6.4. Рассчитывают содержание тебуконазола в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: профиль вымывания тебуконазола может меняться при использовании новой партии сорбента.

2.5.7. Подготовка приборов и средств измерения.

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения проводится в соответствии с требованиями технической документации.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Экстракция тебуконазола из растений и семян рапса

Навеску измельченных растений или семян рапса, массой 10 г помещают в коническую колбу на 250 мл, заливают 50-100 мл смеси растворителей ацетон – вода (в соотношении 1:1) и экстрагируют тебуконазол в ультразвуковой ванне в течение 10 мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр («красная лента»). Экстракцию повторяют дважды порциями по 30 мл той же смеси. Объединенный фильтрат помещают в делительную воронку и переэкстрагируют тебуконазол дихлорметаном трижды порциями по 30 мл. Для ускорения расслоения можно добавить небольшое количество (5 мл) насыщенного раствора хлорида натрия. Объединенные дихлорметановые экстракты фильтруют через слой

безводного сернокислого натрия. Полученный раствор выпаривают на ротационном испарителе при температуре бани 50°С до полного удаления дихлорметана. Далее проводят очистку экстрактов по п.2.6.3.

2.6.2. Экстракция тебуконазола из масла рапса

Навеску масла 20 г растворяют в 200 мл гексана и экстрагируют тебуконазол 100 мл ацетонитрила в УЗ-ванне в течение 15 мин. Полученную смесь помещают в делительную воронку объемом 500 мл. После расслоения* нижний ацетонитрильный слой сливают, из верхнего гексанового слоя экстрагируют тебуконазол ацетонитрилом еще дважды порциями по 50 мл. К объединенному ацетонитрильному экстракту добавляют воду в соотношении ацетонитрил:вода = 1:4 и переэкстрагируют тебуконазол дихлорметаном трижды порциями по 30 мл. Объединенные дихлорметановые экстракты сушат над безводным сернокислым натрием и выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 0°С. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона и помещают в морозильную камеру с температурой -18°С на 2 часа. Охлажденный ацетоновый раствор декантируют в круглодонную колбу на 10 мл через фильтр «красная лента», после чего фильтр промывают 2 мл охлажденного ацетона. Полученный раствор упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°С до полного удаления ацетона. Далее очистку проводят по п.2.6.3.

*В случае образования сравнительно стойких эмульсий можно добавить несколько мл насыщенного раствора хлорида натрия.

2.6.3. Очистка экстрактов на колонке с флорисилом

Остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.1 и 2.6.2. экстрактов семян или масла, количественно переносят двумя порциями по 2 мл смеси гексан-этилацетат (1:1, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п. 2.5.5.). Промывают колонку 20 мл гексана, которые отбрасывают, затем 10 мл элюента № 1, которые тоже отбрасывают. Тебуконазол элюируют 40 мл элюента №2 (гексан-этилацетат=1:9). Весь элюат собирают в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 50°С. Сухой остаток растворяют в 1-2 мл гексана и 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

2.6.4. Условия хроматографирования

1. Газовый хроматограф «Цвет-550М» с ТИД или аналогичный.
Колонка стеклянная 1 м х 3 мм, заполненная хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30. Температура колонки 235°С, испарителя 250°С, детектора 390°С.
Скорость газа-носителя (азот) через колонку 30 см^3/мин, водорода 17 см^3/мин, воздуха 200 см^3/мин. Объем вводимой пробы 1 мкл.
Время удерживания тебуконазола 3.05мин.
Линейный диапазон детектирования 0.5-10 нг.

2.6.6. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание тебуконазола в образце растений, семян или масла рапса (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{H_2 \times C \times V}{H_1 \times P}$$

где H_1 – высота (площадь) пика тебуконазола в стандартном растворе, мм;
H_2 – высота (площадь) пика тебуконазола в анализируемой пробе, мм;
V – объём экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;
C – концентрация тебуконазола в стандартном растворе, мкг/мл,
P – навеска анализируемого образца, г; (при определении тебуконазола в масле следует учесть взятую для определения аликвоту, т.е. P/2).

Содержание остаточных количеств тебуконазола в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2-х параллельных определений.
Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор тебуконазола 10 мкг/мл разбавляют.

3. Требования техники безопасности.

При работе с реактивами соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005-88).
При выполнении измерений с использованием газового хроматографа соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

4. Контроль погрешности измерений.

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости результатов измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-1-6. 2002 "Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений".

5. Разработчики.

Цибульская И.А., Блинова Т.Ф., Копытова Ф.И.
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (Санкт-Петербург).