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 4
МУК 4.1.1399—4.1.1403—03

Издание официальное

Москва • 2006

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 3
Часть 4
МУК 4.1.1399—4.1.1403—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.—56 с.—Вып. 3.—Ч. 4.

ISBN 5—7508—0597—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. Довгилевич А. В.); 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 19.04.06

Формат 60x88/16 Печ. л. 3,5

Тираж 500 экз. Заказ 20
(1-й завод 1—300 экз.)

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 Издательским отделом
Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России
113105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел. 952-50-89

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

Содержание

Определение остаточных количеств тиаклоприда в воде, почве и яблоках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1399—03 4

Определение остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил-сульфона (мв 46136) в воде, почве, клубнях картофеля, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1400—03 13

Измерение концентраций фипронила в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.14001—03 24

Определение остаточных количеств флумиоксазина в воде, почве, семенах и масле сои, зеленой массе и зерне кукурузы методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1402—03 34

Определение остаточных количеств хлоримурон–этила в воде, почве, семенах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1403—03 48

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.

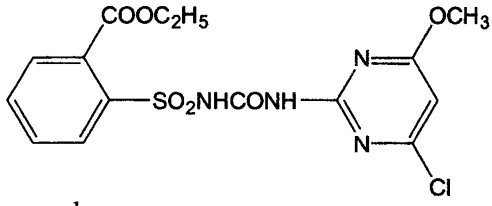
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств хлоримурон-этила в воде, почве, семенах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1403—03

1. Вводная часть

Фирма-производитель: Лазорик Агро.
Торговое наименование: Классик.
Действующее вещество: хлоримурон-этил.



Структурная формула:

1-(4-хлор-6-метоксипиримидин-2-илуреидосульфонил)бензойной кислоты этиловый эфир (IUPAC).

Этил 2-[[[[(4-хлоро-6-метокси-2-пиридиминил)амино]карбонил]амино]сульфонил]бензоат (C.A.).

Эмпирическая формула: $C_{15}H_{15}ClN_4O_6S$.

Молекулярная масса: 414,83.

Бесцветное кристаллическое вещество.

Температура плавления: 181 °C.

Давление паров при 25 °C: 4,9 10^{-7} мПа.

Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 0,11 (pH 7).

Низкая растворимость в органических растворителях; растворимость в воде (мг/л, 25 °С): 9 (pH 5), 450 (pH 6), 1200 (pH 7).

Вещество относительно стабильно в кислых средах (25 °С, pH 5, DT_{50} 17—25 дней), быстро разлагается в щелочных растворах (при pH более 9).

Область применения препарата. Классик – гербицид для уничтожения многих видов однолетних двудольных сорных растений на сое норма расхода 12—24 г/га для вегетирующих растений и 24—52,5 г/га при внесении в почву до посева или до появления всходов. Нельзя использовать препарат в почвах с РН 7 и выше (см. физические свойства). Чувствительные культуры в севообороте – кукуруза, сорго, хлопчатник, рис. Применяется также вместе с метрибузином (препараты канопи, превю) и минуром (препараты джемени, лорокс-плюс).

2. Методика определения хлоримурон-этила в воде, почве, семенах и масле сои методом ВЭЖХ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определение хлоримурон-этила методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов водно-ацетоновой смесью и очистке путем перераспределения между двумя жидкими фазами, а также на колонке с силикагелем.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Объект анализа	Предел обнаружения, мг/кг (л)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (л)	Среднее значение определения, % (для каждого объекта $n = 24$)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, $n = 24$, $P = 0,95$
Вода	0,002	0,002—0,02	90,7	4,63	4,06
Почва	0,01	0,01—0,1	87,7	6,29	5,51
Семена сои	0,01	0,01—0,1	82,5	5,50	4,82
Масло сои	0,02	0,02—0,2	88,5	7,01	6,14

Таблица 2

Полнота определения хлоримурон-этила в воде, почве, семенах и масле сои (n = 6 для каждой концентрации)

Среда	Внесено, мг/кг (л)	Найдено, мг/кг (л)	Стандартное отклонение, $S\pm$	Доверительный интервал, % (P = 0,95, n = 6)	Полнота определения, %
Вода	0,002	0,00177	$1,42 \cdot 10^{-4}$	5,68	88,3
	0,004	0,00367	$1,95 \cdot 10^{-4}$	3,90	91,8
	0,01	0,00906	$3,32 \cdot 10^{-4}$	2,66	90,6
	0,02	0,01849	$6,48 \cdot 10^{-4}$	2,59	92,5
Среднее					90,7
Почва	0,01	0,00858	$5,45 \cdot 10^{-4}$	4,36	85,8
	0,02	0,0175	$1,33 \cdot 10^{-3}$	5,32	87,6
	0,05	0,0462	$2,78 \cdot 10^{-3}$	5,56	92,4
	0,1	0,0850	$7,50 \cdot 10^{-3}$	6,00	85,0
Среднее					87,7
Семена сои	0,01	0,0082	$5,66 \cdot 10^{-4}$	4,52	81,5
	0,02	0,0161	$7,09 \cdot 10^{-4}$	2,84	80,1
	0,05	0,0419	$3,44 \cdot 10^{-3}$	5,51	83,8
	0,1	0,0846	$5,92 \cdot 10^{-3}$	4,74	84,6
Среднее					82,5
Масло сои	0,02	0,0179	$9,68 \cdot 10^{-4}$	3,87	90,5
	0,04	0,0351	$3,50 \cdot 10^{-3}$	7,00	87,8
	0,1	0,0905	$6,95 \cdot 10^{-3}$	5,56	90,5
	0,2	0,1700	$1,50 \cdot 10^{-2}$	6,00	85,0
Среднее					88,5

2.1.3. Избирательность метода

Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для ВЭЖХ, «В-230НМ» или хч	ТУ 6-09-3534—87
Бумажные фильтры «красная лента»	ТУ 6.091678—86
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ 6709—79
Хлоримурон-этил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 97,5 %	
Дихлорметан, хч	ТУ 2631-019-44493179—98
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76

Калий фосфорно-кислый 2-замещенный 3-водный, чда	ГОСТ 2493—75
Калия перманганат	ГОСТ 20490—75
Кислота ортофосфорная, чда 85 %-ный раствор, имп. (Бельгия) или хч	ГОСТ 6552—80
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Натрий серно-кислый безводный, ч, свежепрокаленный	ГОСТ 4166—76
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328—77
н-Гексан, хч, свежеперегнанный	ТУ 2631-003-05807999—98
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил –0,005 М ортофосфорная кислота (55 : 45, по объему)	
Силикагель для колоночной хроматографии Л 40/100μm (Chemapol, Чехия)	
Стекловата	
Фосфора пентоксид, ч	МРТУ 6-09-5759—69
Элюент № 1 для колоночной хроматографии: смесь гексан–ацетон (85 : 15, по объему)	
Элюент № 2 для колоночной хроматографии: смесь гексан–ацетон (70 : 30, по объему)	

2.3. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф «Альянс» фирмы «Waters» с УФ детектором (Waters 2487), снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки	
Колонка Symmetry – C18 (250 × 4,6) мм, зернение 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная	
Предколонка Waters Symmetry – C18 (20 × 3,9) мм, зернение 5 мкм (Waters, USA)	
Весы аналитические ВЛА-200 или аналогичные	ГОСТ 34104—80Е
Установка ультразвуковая «Серьга»	ТУ 3.836.008
Мельница лабораторная зерновая ЛМЗ	ТУ 1-01-0593—79
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М или аналогичный	ТУ 25-11-917—74
Бидистиллятор	
РН-метр универсальный ЭВ-74	ГОСТ 22261—76
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 25336—82
Воронки делительные на 500 $см^3$ ВД-3-500	ГОСТ 8613—75
Цилиндры мерные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1774—74
Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$	ГОСТ 22292—74

2.4. 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). Пробы растительных материалов хранятся до анализа в морозильной камере при температуре –18 °С, перед проведением анализа их измельчают на лабораторной мельнице.

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 и хлористый метилен встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции кислоты, затем 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 поташем (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

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

2.5.2. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа колонку Symmetry-C18 кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 мл/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1—2 ч.

2.5.3. Приготовление растворов

Для приготовления 0,005М раствора ортофосфорной кислоты 0,5 г 98 % (или 0,56 г 87 %) кристаллической H_3PO_4 помещают в мерную колбу объемом 1 л, растворяют в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой. Для приготовления 0,5 М раствора K_2HPO_4 114 г кристаллического $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ помещают в мерную колбу на 1 л, растворяют при перемешивании в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем раствора до метки, 0,25М раствор K_2HPO_4 готовят разбавлением в 2 раза 0,5 М раствора. Для получения 90 %-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 900 мл ацетона с 100 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры. Для приготовления подвижной фазы смешивают 550 мл ацетонитрила с

450 мл 0,005М ортофосфорной кислоты в колбе на 1 000 мл, смесь фильтруют, при необходимости дегазируют. Для приготовления элюента № 1 в колбе на 1 000 мл смешивают 850 мл н-гексана и 150 мл ацетона. Для приготовления элюента № 2 в колбе на 1 000 мл смешивают 700 мл н-гексана и 300 мл ацетона.

2.5.4. Приготовление стандартного и градуировочных растворов

Берут точную навеску хлоримурон-этила (50 мг), переносят в мерную колбу на 50 мл, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки (стандартный раствор с концентрацией 1,0 мг/мл). Градуировочные растворы с концентрациями 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрил–0,005М ортофосфорная кислота [55 : 45, по объему]). Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

2.5.5. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация хлоримурон-этила в растворе) в хроматограф вводят по 20 мкл градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации хлоримурон-этила в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.5.6. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 20 мл смеси гексан–ацетон (85 : 15, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 50 мл смеси гексан–ацетон (70 : 30, по объему) и 30 мл смеси гексан–ацетон (85 : 15, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.7. Проверка хроматографического поведения хлоримурон-этила на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора хлоримурон-этила с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 5 мл элюента № 1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 мл элюента № 1 и также наносят на колонку. Промывают колонку 25 мл элюента № 1, затем 50 мл элюента № 2 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.3) и анализируют на содержание хлоримурон-этила по п. 2.6.6.

Фракции, содержащие хлоримурон-этил, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.6.6. Рассчитывают содержание хлоримурон-этила в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: параметры удерживания хлоримурон-этила и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.5.8. Подготовка приборов и средств измерения

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

2.6. Проведение определения

2.6.1. Определение хлоримурон-этила в воде

Образец предварительно отфильтрованной воды объемом 100 мл подкисляют 2М H_3PO_4 до pH 3 (контроль осуществляют pH-метром) и экстрагируют хлористым метиленом трижды по 20 мл. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (3 г), осушитель промывают 10—15 мл хлористого метилена. Полученный раствор упаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. При необходимости проводят дополнительную очистку экстракта на колонке с силикагелем по пункту 2.6.5.

Сухой остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.2. Экстракция хлоримурон-этила из проб масла сои

Навеску масла, массой 20 г растворяют в 25 мл ацетона, раствор помещают в делительную воронку объемом 100 мл и добавляют 25 мл воды. Смесь встряхивают в течение 2 мин, нижний водно-ацетоновый слой отделяют. Экстракцию повторяют с 50 мл смеси ацетон–вода (в соотношении 1 : 1). Объединенный экстракт помещают в морозильную камеру с температурой –18 °С на 1 час, после чего фильтруют через бумажный фильтр (красная лента) и упаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 40 °С до полного удаления ацетона (объем ~ 50 мл). Водный остаток переносят в делительную воронку объемом 500 мл, добавляют 50 мл 0,5 М раствора K_2HPO_4. Далее очистку экстрактов проводят по п. 2.6.4.

2.6.3. Экстракция хлоримурон-этила из проб почвы и семян сои

Образец воздушно-сухой почвы или навеску измельченных на лабораторной мельнице семян сои, массой 20 г помещают в коническую колбу емкостью 250 мл с притертой пробкой, добавляют 40 мл 90 %-го водного

ацетона и экстрагируют в течение 15 мин на ультразвуковой бане. Суспензию фильтруют на стеклянной воронке через бумажный фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют дважды с 30 мл 90 %-ного водного ацетона. Объединенные экстракты упаривают до водного остатка (~10 мл) на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Водный остаток переносят в делительную воронку объемом 500 мл, добавляют 90 мл 0,25 М раствора K_2HPO_4. Далее очистку экстрактов проводят по п. 2.6.4.

2.6.4. Очистка экстрактов

Приготовленные по п.п. 2.6.2 и 2.6.3 экстракты промывают дважды 20 мл гексана (верхний органический слой отбрасывают) и 25 мл хлористого метилена (нижний органический слой отбрасывают), встряхивая делительную воронку каждый раз по 2—3 мин. Водный раствор подкисляют 2М H_3PO_4 (~30 мл) до pH 3 (контроль осуществляют pH-метром) и экстрагируют хлористым метиленом трижды по 25 мл. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (3 г), осушитель промывают 10—15 мл хлористого метилена. Полученный раствор упаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5*.

2.6.5. Очистка на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.2 и 2.6.3 экстрактов почвы и растительного материала количественно переносят двумя 3-мл порциями смеси гексан–ацетон (85 : 15, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п. 2.5.6). Промывают колонку 25 мл элюента № 1, которые отбрасывают. Хлоримурон-этил элюируют 50 мл элюента № 2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.6. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф «Альянс» фирмы «Waters» с УФ-детектором (Waters 2487), снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки или другой с аналогичными характеристиками.

Колонка Symmetry – C18 (250 × 4,6) мм, зернение 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная.

Температура колонки 30 °С.

Предколонка Waters Symmetry C-18 для защиты аналитической колонки.

---

* В случаях, когда очистка экстрактов контрольных проб (п. 2.6.3) дает удовлетворительные результаты дополнительную очистку на колонке с силикагелем можно исключить.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,005М ортофосфорная кислота в соотношении 55 : 45 (по объему).

Скорость потока элюента: 1 мл/мин.

Рабочая длина волны 236 нм.

Объем вводимой пробы 20 мкл.

Время удерживания хлоримурон-этила 9,2 ± 0,1 мин.

Линейный диапазон детектирования 0,1—2,0 мкг/мл.

2.6.7. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание хлоримурон-этила в образце воды, почвы или растительных материалов (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P}$$, где

S_1 – площадь пика хлоримурон-этила в стандартном растворе, ед.адс×с;

S_2 – площадь пика хлоримурон-этила в анализируемой пробе, ед.адс×с;

V – объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, мл;

P – навеска анализируемого образца, г, (для воды – объем, мл);

C – концентрация стандартного раствора хлоримурон-этила, мкг/мл.

Содержание остаточных количеств хлоримурон-этила в анализируемом образце вычисляют как среднее из 3 параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие чем пик стандартного раствора хлоримурон-этила с концентрацией 2 мкг/мл, разбавляют.

3. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования инструкции «Основные правила безопасной работы в химической лаборатории», общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, а также инструкции по эксплуатации жидкостного хроматографа и электрооборудования до 400 В.

4. Контроль погрешности измерений

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

5. Разработчики

Юзихин О. С., Черменская Т. Д., Цибульская И. А., Долженко В. И.
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений.