

**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 2  
МУК 4.1.1430—4.1.1433—03**

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 Прометрина в  
зеленой массе петрушки и укропа, клубнях картофеля,  
корнеплодах моркови и петрушки  
методом газожидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.1431—03**

### 1. Вводная часть

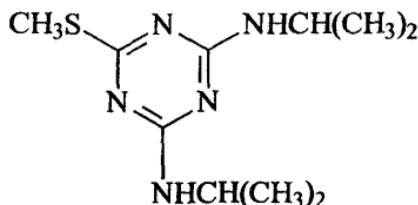
Фирма-производитель: Сингента Кроп Протекшен АГ.

Торговое название: Гезагард.

Название действующего вещества по ИСО: Прометрин.

Название действующего вещества по ИЮПАК: N<sup>2</sup>,N<sup>4</sup>-дизопропил-6-метилтио-1,3,5-триазин-2,4-диамин.

Структурная формула:



Эмпирическая формула C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>S.

М. м. 241,4

Химически чистый Прометрин представляет собой белое кристаллическое вещество без запаха.

Давление паров 0,165 мПа.

Температура плавления 118—120 °С.

Коэффициент распределения н-октанол-вода:  $K_{ow} \lg P_{ow} = 3,1$ .

Растворимость в воде составляет 33,0 мг/л при 25 °С и pH 7,0.

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С): ацетон — 300,0; гексан — 6,3; этанол — 140,0; толуол — 200,0; н-октанол — 110,0.

Прометрин стабилен в водных растворах в нейтральной, слабощелочной и слабокислой среде, быстро гидролизуется сильными кислотами и щелочами.

Период полураспада в почве в полевых условиях от 14 до 158 дней (в среднем 50 дней). Основным путем разложения вещества в почве является микробиологическое деалкилирование и окисление метилтио-группы.

*Краткая гигиеническая характеристика.* Прометрин относится к малоопасным веществам по острой оральной (ЛД<sub>50</sub> крысы 5 233 мг/кг), дермальной (ЛД<sub>50</sub> крысы выше 3 100 мг/кг) токсичности и умеренно опасным по ингаляционной (ЛД<sub>50</sub> крысы более 5 170 мг/м<sup>3</sup>) токсичности. Может оказывать побочные неблагоприятные токсикологические эффекты.

В России установлены следующие гигиенические нормативы.

ДСД — 0,005 мг/кг/сут.

МДУ в зерне кукурузы, гороха, фасоли, чечевицы, семенах и масле подсолнечника и сои, клубнях картофеля, в тмине, кoriандре и чесноке — 0,1 мг/кг.

Остаточные количества в моркови, сельдерее, укропе, петрушке не допускаются.

*Область применения.* Прометрин — гербицид из группы производных 1,3,5-триазина системного почвенного действия с длительным защитным эффектом, может проникать через листья растений, передвигаясь по ксилеме. Высокоэффективен против малолетних злаковых и двудольных сорняков в период их прорастания в посевах хлопчатника, зернобобовых, подсолнечника, сои, моркови и других зонтичных. Широко используется для приготовления смесевых промышленных препаратов.

Зарегистрирован под торговой маркой Гезагард - 50 в России в качестве гербицида для подавления сорняков в посевах подсолнечника, сои, зернобобовых, лекарственных кормовых бобовых куль-

тур, моркови и других зонтичных, чеснока, посадках картофеля с нормой расхода 2—5 кг/га, однократная обработка.

**2. Методика определения остаточных количеств Прометрина в зеленой массе петрушки и укропа, клубнях картофеля, корнеплодах моркови и петрушки методом газожидкостной хроматографии**

**2.1. Основные положения**

**2.1.1. Принцип метода**

Методика основана на определении Прометрина методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после экстракции веществ органическим растворителем, очистки экстрактов путем перевода соединений в ионизированную форму и последующего перераспределения между двумя несмешивающимися растворителями.

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки.

**2.1.2. Метрологическая характеристика метода**

Метрологическая характеристика метода газожидкостной хроматографии приведена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

**Метрологическая характеристика метода газожидкостной хроматографии**

Метрологические параметры, $p = 0,95$ , $n = 20$					
анализируемый объект	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, $S$	доверительный интервал среднего результата, % $\pm$
Клубни картофеля, корнеплоды моркови и петрушки	0,02	0,02—0,32	91,9	4,34	91,9 $\pm$ 2,0
Зеленая масса петрушки и укропа	0,02	0,02—0,32	83,2	4,95	83,2 $\pm$ 2,3

### 2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых для защиты овощных и плодовых культур от вредителей и болезней (хлор- и фосфорогранические пестициды, амиды, тио- и дитиокарбаматы, синтетические пиретроиды).

Таблица 2

**Доверительный интервал и полнота определения Прометрина  
в клубнях картофеля, корнеплодах моркови и петрушки и  
в зеленой массе петрушки и укропа**

Среда	Добавлено Прометрина, мг/кг	Обнаружено Прометрина, мг/кг	Доверитель- ный интер- вал, $\pm$	Полнота определения, %
Клубни картофеля, корнеплоды моркови и петрушки	0,02	0,0185	0,0020	92,5
	0,04	0,0370	0,0020	91,3
	0,16	0,1440	0,0062	90,1
	0,32	0,3000	0,0140	93,7
Зеленая масса петрушки и укропа	0,02	0,0168	0,0020	84,4
	0,04	0,0330	0,0030	82,5
	0,16	0,1370	0,0091	85,6
	0,32	0,2570	0,0118	80,4

### 2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

#### 2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Аналитический стандарт Прометрина

с содержанием не менее 95 % д.в.,

фирма Сингента

Азот особой чистоты

ГОСТ 9293—74

Ацетон

ТУ 6-09-3513—86

Ацетонитрил

ТУ 6-09-3534—87

Гексан

ТУ 6-09-3375—78

Гелий, очищенный марки «А»

ТУ-51-940—80

Кислота хлороводородная,

0,1 н водный раствор

Кислота хлороводородная,

концентрированная, хч

ГОСТ 3118—77

Натрий серно-кислый, безводный, хч

ГОСТ 4166—76

## МУК 4.1.1431—03

Натрия хлорид, насыщенный водный раствор	
Натрия хлорид, хч	ГОСТ 4233—77
Неподвижные фазы для газожидкостной хроматографии: SE-30, 5 % на Хроматоне-N-AW (0,16-0,20 мм)	
фирма Хемапол, Чехия	
Флорисил для колончной хроматографии с размером частиц 60—80 меш.,	
фирма Мерк или аналогичный	
Хлороформ, ч	ГОСТ 20015—74
Этилацетат	ГОСТ 22300—76
Эфир диэтиловый (для наркоза,	
Фармакопея СССР).	
<b>2.2.2. Посуда и оборудование</b>	
Вакуумный ротационный испаритель МР-1М	ТУ 25-11-917—74
Весы аналитические ВЛА-200	
или аналогичные	ГОСТ 34104—80 Е
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности $\pm 0,038$ г	ГОСТ 19491—74
Водоструйный насос	ГОСТ 10696—75
Воронки делительные 250, 500 мл	ГОСТ 25336—82Е
Воронки для фильтрования стеклянные	ГОСТ 8613—75
Встряхиватель механический	ТУ 64-1-1081—73
Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 мл	ГОСТ 10394—72
Колбы мерные на 25, 50 и 100 мл	ГОСТ 1770—74
Колонка хроматографическая, капиллярная кварцевая HP-5 (5 % фенилсиликона + 95 % метилсиликона), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм, фирма Хьюлетт Пакард или аналогичная	
Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 2 м с внутренним диаметром 3 мм (заполненная носителем)	
Концентраторы грушевидные (конические) 250 мл	ГОСТ 10394—72

Микрошприц для газового хроматографа  
на 1—10 мкл

Пипетки мерные на 1; 2,0; 5,0; 10 мл ГОСТ 20292—74  
Фильтры бумажные «красная лента» ТУ 6-09-2678—77

Хроматограф газовый «Цвет-600» или  
другой марки, снабженный термоионным  
детектором на азот

Хроматограф газовый «Кристалл 2000 м»  
с термоионным детектором на азот  
и приспособлениями для капиллярной колонки  
Центрифужные банки полипропиленовые  
с крышками объемом 250 мл, Nalgene,  
cat. № 3120—0250.

### *2.3. Подготовка к определению*

#### *2.3.1. Приготовление стандартных растворов*

Взвешивают 50 мг Прометрина в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном. Получают исходный стандартный раствор № 1 с концентрацией 1 мг/мл, который хранят в холодильнике в течение 6 месяцев.

Методом последовательного разведения готовят стандартный раствор № 2 с концентрацией Прометрина 10 мкг/мл в ацетоне, который можно хранить в холодильнике 30 дней.

#### *2.3.2. Построение калибровочного графика*

Для построения калибровочного графика из стандартного раствора № 2 готовят методом последовательного разбавления ацетоном стандартные растворы с концентрацией: 4,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25 мкг/мл. Вводят в хроматограф по 2—3 мкл каждого стандартного раствора, измеряют высоту пиков и строят график зависимости высоты пика от концентрации раствора.

#### *2.3.3. Подготовка колонки для очистки экстракта*

##### *2.3.3.1. Подготовка колонки с Флорисилом.*

В стеклянную или пластмассовую колонку длиной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно стекловату и заполняют колонку Флорисилом на высоту 10 см. На слой Флорисила насыпают слой безводного  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  толщиной 1,0 см. За день до очистки экстракта колонку промывают последовательно 20 мл ацетона и 10 мл гексана. После промывки колонка готова к работе.

### 2.3.3.2. Проверка хроматографического поведения Прометрина на колонках с Флорисилом.

При отработке методики или поступлении новой партии сорбента (Флорисил) проводят изучение поведения Прометрина на колонке.

Для этого в концентратор (или пробирку) вносят 1 мл стандартного раствора Прометрина концентрацией 4 мкг/мл, упаривают растворитель на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха или в токе теплого воздуха.

Затем растворяют Прометрин в 1 мл смеси растворителей гексан : ацетон в соотношении 4 : 1 и наносят его на подготовленную, как указано выше, колонку. Промывают колонку 15 мл гексана, смыв отбрасывают. Затем пропускают через колонку 25 мл смеси гексан : этилацетат в соотношении 7 : 2, отбирая последовательно по 5 мл элюента. Каждую фракцию собирают отдельно в концентраторы и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха.

Сухие остатки растворяют в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 2—3 мкл. По результатам обнаружения Прометрина в каждой фракции определяют объем смеси гексан : этилацетат, необходимой для полного вымывания Прометрина.

### 2.4. Отбор, хранение и доставка 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 корнеплодов и зеленой массы хранятся при температуре 0—4 °С в течение суток. Для длительного хранения пробы замораживаются и хранятся при температуре -18 °С.

### 2.5. Проведение определения

#### 2.5.1. Клубни картофеля, корнеплоды моркови, петрушки и зеленая масса укропа и петрушки

Навеску измельченного растительного материала (корнеплоды моркови, корнеплоды петрушки, зеленая масса укропа или зеленая масса петрушки) массой 25 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, заливают 70 мл ацетонитрила и встряхивают в течение 30 мин. Экстракт отфильтровывают через воронку с бумажным фильтром в концентратор емкостью 250 мл. Экстракцию повторяют

еще 2 раза, используя каждый раз по 50 мл ацетонитрила и встряхивая смесь в течение 30 мин.

Экстракты отфильтровывают и объединяют в концентраторе. Растворитель упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха. (Упаривание проводить осторожно, т. к. возможно вспенивание ацетонитрила.)

Водный остаток в концентраторе растворяют в 25 мл 0,1 н раствора соляной кислоты и фильтруют через бумажный фильтр в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор еще раз ополаскивают 25 мл 0,1 н раствора соляной кислоты и через фильтр переносят в ту же делительную воронку. Объединенный в делительной воронке раствор промывают смесью гексан : эфир в соотношении 7 : 1 по объему, 2 раза порциями по 20 мл. Сливают из делительной воронки нижний водный слой в химический стакан объемом 100 мл, а смесь гексан : эфир отбрасывают. После промывания водную фазу в стакане подщелачивают 1 н раствором едкого натрия (около 4,5 мл) до pH = 8.

Переносят полученный раствор в делительную воронку и реэкстрагируют Прометрин тремя порциями хлороформа по 20 мл каждая. Сливают из делительной воронки каждый раз нижний слой (хлороформ) в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Объединенные экстракты упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха.

Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона и вводят в хроматограф 2—3 мкл раствора. При наличии мешающих пиков в контрольных образцах экстракт очищают на колонках с Флорисилом.

#### 2.5.2. Очистка образцов на колонке

При очистке образцов на колонке сухой остаток в концентраторе, полученный при упаривании хлороформа, растворяют в 1 мл смеси гексан : ацетон в соотношении 4 : 1 и наносят на колонку. Промывают колонку последовательно 15 мл гексана и 5 мл смеси гексан : этилацетат — 7 : 2, смывы отбрасывают.

Элюируют Прометрин 15 мл смеси гексан : этилацетат (7 : 2). Элюат собирают в концентратор и упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 40 °С досуха. Сухой остаток разводят в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 2—3 мкл.

## 2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

### 2.6.1. Условия хроматографирования

Хроматограф «Цвет-600» с термоионным детектором по азоту.

Рабочая шкала электрометра  $16 \times 10^9$ . Скорость движения ленты самописца 10 мм/мин.

Колонка стеклянная спиральная, длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм.

Носитель Хроматон N-AW, неподвижная фаза SE-30, 5 %, размер частиц 0,20—0,25 мм.

Температура испарителя — 270 °С, термостата колонки — 190 °С, переходной камеры — 364 °С.

Газовый режим:  
азот — 45 мл/мин;  
водород — 13 мл/мин;  
воздух — 180 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Прометрина — 1 мин 16 с.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,75—12,00 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту пика.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией Прометрина 4,0 мкг/мл соответственно, разбавляют.

#### 2.6.1.1. Альтернативные условия хроматографирования.

Хроматограф газовый «Кристалл 2000 м» с термоионным детектором на азот.

Капиллярная кварцевая колонка HP-5 (5 % фенилсиликона + 95 % метилсиликона), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Программированная температура термостата колонки: начальная температура — 160 °С, выдержка — 2 мин; нагрев колонки по 30 °С/мин до 250 °С, выдержка 5 мин.

Температура испарителя — 260 °С;  
детектора — 350 °С.

Регулятор расхода гелия — РРГ-11; режим — Splitless.

Газ 1 — гелий, линейная скорость — 20 см/с, давление на входе — 27,29 кПа.

Газ 2 — гелий (продувка испарителя), расход — 1,0 мл/мин; сброс 1 : 50.

Газ 3 — азот (поддув в детектор), расход во время анализа — 40 мл/мин.

Расход водорода – 15 мл/мин, воздуха – 180 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Прометрина – 4 мин 30 с.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,25–4,00 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту пика.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией Прометрина 4,0 мкг/мл соответственно, разбавляют.

### 2.6.2. Обработка результатов анализов

Содержание Прометрина рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{np} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{cm} \cdot m} \cdot P, \text{ где}$$

$X$  – содержание Прометрина в пробе, мг/кг;

$S_{cm}$  – высота (площадь) пика стандарта, мВ;

$S_{np}$  – высота (площадь) пика образца, мВ;

$A$  – концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

$V$  – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

$m$  – масса анализируемого образца, г;

$P$  – содержание Прометрина в аналитическом стандарте, %.

### 3. Требования техники безопасности

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

### 4. Разработчики

Калинин В. А., профессор, канд. с-х. наук, Довгилевич Е. В., канд. биол. наук, Калинина Т. С., канд. с-х. наук, Довгилевич А. В., канд. хим. наук.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976-43-26.