

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний
МУК 4.1.1437—4.1.1448—03, МУК 4.1.1453—4.1.1460—03,
МУК 4.1.1467—03

Выпуск 4

Издание официальное

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

**Сборник методических указаний
МУК 4.1.1437—4.1.1448—03, МУК 4.1.1453—4.1.1460—03,
МУК 4.1.1467—03**

Выпуск 4

ББК 51.21
О 37

О 37 Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний. Вып. 4—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.—254 с.

Настоящий сборник содержит копии оригиналов методических указаний по определению остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды.

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В.Н. Ракитский, проф. Т.В. Юдина); Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К.А. Тимирязева (проф. В.А. Калинин, к.х.н. А.В. Довгилевич); при участии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (А.П.Веселов). Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, академиком РАМН Г.Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60х88/16

Тираж 150 экз.

Печ.л.16,0

Тиражировано отделом информационно-издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора

© Роспотребнадзор, 2007

© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007

Содержание

Определение остаточных количеств тритосульфурона в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зерне и зеленой массе кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1437—03	4
Определение остаточных количеств трифлуралина в зеленой массе и зерне зерновых культур, в семенах и масле подсолнечника, сои и рапса методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1438—03	20
Определение остаточных количеств фенпироксимата и его метаболитов в воде, почве, винограде и яблоках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1439—03	30
Измерение концентрации фенпироксимата в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1440—03	43
Измерение концентраций флуметсулама и флорасулама в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1441—03	50
Определение остаточных количеств флуметсулама и флорасулама в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1442—03	59
Определение остаточных количеств флуазифоп-П-бутил по флуазифоп-П в воде, зеленой массе растений, клубнях картофеля, зерне гороха, семенах и масле сои, подсолнечника, рапса, льна методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1443—03	77
Определение остаточных количеств флутриафола в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, винограде и яблоках методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1444—03	99
Определение остаточных количеств хлороталонила в зерне и соломе зерновых колосовых культур, винограде, яблоках, хлороталонила и его метаболита — SDS 3701 (R 182281) методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1445—03	113
Определение остаточных количеств эсфенвалерата в воде водоемов, почве, яблоках, клубнях картофеля, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1446—03	128
Измерение концентраций карбосульфана в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1447—03	139
Определение остаточных количеств диниконазола в семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1448—03	146
Измерение концентраций дикамбы в воздухе рабочей зоны газожидкостной и тонкослойной хроматографией: МУК 4.1.1453—03	153
Определению остаточных количеств имазамокса в воде, почве, зерне и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1454—03	164
Определение остаточных количеств клефоксидима в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1455—03	176
Определение остаточных количеств кломазона в воде, почве, зерне, соломе риса, семенах и масле сои хроматографическими методами: МУК 4.1.1456—03	187
Определение остаточных количеств крезоксим-метила в воде, почве, яблоках и его метаболита крезоксима в воде и почве газохроматографическим методом: МУК 4.1.1457—03	203
Определение остаточных количеств метазахлора в семенах и масле горчицы и рапса газохроматографическим методом: МУК 4.1.1458—03	215
Определение остатков пирипроксифена в воде, почве и яблоках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1459—03	223
Определение остаточных количеств тепралоксидима в воде, почве, сахарной свекле и сое методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1460—03	233
Определение остаточных количеств бромуконазола в воде, почве, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур, ягодах черной смородины и винограда методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1467—03	245

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,
Первый заместитель министра здравоохранения
Российской Федерации
Г.Г. Онищенко

24 июля

МВК 9.1.

1448-03

Дата введения:

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДИНИКОНАЗОЛА В СЕМЕНАХ И МАСЛЕ ПОДСОЛНЕЧНИКА МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.

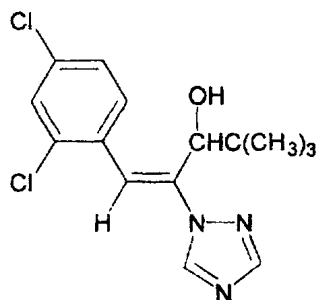
1. Вводная часть

Фирма производитель: Август

Торговое наименование: ВИАЛ

Действующее вещество: диниконазол М (ISO).

Структурная формула:



(E)-(R) -1-(2,4-дихлорфенил)-4,4-диметил-2-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)пент-1-ен-3-ол (IUPAC).

Брутто формула: $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O$

Мол. масса: 326,2.

Химически чистый препарат - бесцветное кристаллическое вещество.

Температура плавления: 134-156°C

Давление паров при 20°C - 2,93, при 25°C - 4,9 mPa

Коэффициент распределения н-октанол/вода: $K_{ow} \log P = 4,3$ (25°C)

Растворимость в воде при 25°C - 4 мг/л;

в н-гексане - 0,7, ксилоле - 14, метаноле и ацетоне - 95 (в г/кг при 25°C).

Вещество стабильно на свету, при повышенной температуре и влажности.

Класс токсичности по ВОЗ - III, ЕРА - III.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс 639 мг/кг, дермальная > 5000 мг/кг.
 В России установлены следующие гигиенические нормативы:
 ПДК в воде водоемов (мг/дм³) – 0,004,
 ПДК в почве (мг/кг) – не нормирован,
 МДУ в продукции (мг/кг):
 Зерно хлебных злаков – 0,05.

Область применения: фунгицид для борьбы с мучнистой росой, паршой, ржавчиной и др. заболеваниями виноградной лозы, зерновых, сахарной свеклы, плодовых, овощных и масличных культур. Используется как протравитель семян на зерновых.

2. Методика определения диниконазола М в семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на извлечении диниконазола М из семян и масла подсолнечника 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 электронозахватного 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, $n=24$, $P=0.95$
Семена	0,01	0,01 – 0,1	78.0	5.6	4.8
Масло	0,02	0,02- 0,2	79.1	6.4	5.9

Таблица 2

**Полнота определения диниконазола в семенах и масле подсолнечника
(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	0,01	0.0075	$8.2 \cdot 10^{-4}$	6.01	75.0
	0,02	0.0171	$1.5 \cdot 10^{-3}$	5.23	78.3
	0,05	0.040	$3.7 \cdot 10^{-3}$	6.10	80.0
	0,1	0.079	$6.3 \cdot 10^{-3}$	5.17	78.7
<i>Среднее</i>					78.0
Масло	0,02	0.0165	$1.4 \cdot 10^{-3}$	6.71	82.6
	0,05	0.0375	$3.4 \cdot 10^{-3}$	6.68	75.0
	0,1	0.0797	$7.3 \cdot 10^{-3}$	6.21	79.7
	0.2	0.1583	$1.3 \cdot 10^{-2}$	6.10	79.2
<i>Среднее</i>					79.1

2.2. Реактивы и материалы.

Аналитический стандарт диниконазола 99.8%

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.

Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.

Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161-77.

Натрий сернокислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.

Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Стекловата.

Флорисил 150–250 μ m (Merck, Германия), содержание воды $\leq 2.5\%$.

Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.

Хлороформ, ч.д.а., ТУ-2631-020-11291058-96.

Насадка для колонки: хроматон N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30 (Чехия).

Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.

Элюент для колоночной хроматографии №1: гексан-этилацетат (50:50 по объему).

Элюент для колоночной хроматографии №2: гексан-этилацетат (20:80 по объему).

2.3. Приборы и посуда.

Газовый хроматограф Цвет-550 М или аналогичный с ДЭЗ (ДПР) и стеклянной насадочной колонкой, длиной 1 м; внутренним диаметром 3 мм.

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 см³, ГОСТ 1774-74.
Колбы мерные на 25, 50, 100 см³, ГОСТ 1770-74.
Пипетки на 1, 2, 5, 10 см³, 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 «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79). Для длительного хранения пробы семян подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие образцы могут храниться в течение года. Перед анализом пробы семян подсолнечника 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 общепринятыми методиками. 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. Этилацетат промывают равным объемом 5%-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

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°C в течение 8-10 часов.

2.5.3. Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску диниконазола (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 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления по объему, используя для разбавления гексан. Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0-4°C 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 (площадь пика – концентрация диниконазола 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 диниконазола 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 диниконазола на колонке с флорисилом.

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,5 мл стандартного раствора диниконазола с концентрацией 1 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 мл элюента №1 и вносят в колонку. Колбу обмывают еще 2 мл элюента №1 и также вносят в колонку. Затем промывают колонку 20 мл гексана и элюируют диниконазол 50 мл элюента №2 со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют на содержание диниконазола по п. 2.6.4. Фракции, содержащие диниконазол, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют по п. 2.6.4. Рассчитывают содержание диниконазола в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: профиль вымывания диниконазола 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 стандартов и технической документации.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Экстракция диниконазола из семян подсолнечника

Навеску измельченных на лабораторной мельнице семян подсолнечника, массой 10 г помещают в коническую колбу на 250 мл, заливают 50-100 мл смеси растворителей

ацетон – вода (в соотношении 1:1) и экстрагируют диниконазол в ультразвуковой ванне в течение 15 мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр («красная лента»). Экстракцию повторяют дважды 30 мл той же смеси. Объединенный фильтрат помещают в делительную воронку и переэкстрагируют диниконазол хлороформом трижды порциями по 30 мл. Объединенные хлороформные экстракты фильтруют через слой безводного сернокислого натрия. Полученный раствор упаривают на ротационном испарителе при температуре бани 50°C до полного удаления хлороформа. Далее проводят очистку экстрактов по п.2.6.3.

2.6.2. Экстракция диниконазола из масла подсолнечника

Навеску масла 10 г растворяют в 50 мл гексана и экстрагируют диниконазол 50 мл ацетонитрила в УЗ-ванне в течение 15 мин. Полученную смесь помещают в делительную воронку объемом 250 мл. После расслоения* нижний ацетонитрильный слой сливают, из верхнего гексанового слоя экстрагируют диниконазол ацетонитрилом еще дважды порциями по 25 мл. К объединенному ацетонитрильному экстракту добавляют воду в соотношении ацетонитрил:вода = 1:4 и переэкстрагируют диниконазол хлороформом трижды порциями по 30 мл. Объединенные хлороформные экстракты сушат над безводным сернокислым натрием и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 50°C. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона и помещают в морозильную камеру с температурой -18°C на 2 часа. Охлажденный ацетоновый раствор декантируют в круглодонную колбу на 10 мл через фильтр «красная лента», после чего фильтр промывают 2 мл ацетона. Полученный раствор упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°C до полного удаления ацетона. Далее очистку проводят по п.2.6.3.

*В случае образования сравнительно стойких эмульсий можно добавить несколько мл насыщенного раствора хлористого 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. Диниконазол элюируют 50 мл элюента №2 (гексан-этилацетат=2:8). Весь элюат собирают в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 50°C. Сухой остаток растворяют в 1-2 мл гексана и 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

2.6.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Цвет-550М» с ДПР (ДЭЗ) или аналогичный.

1. Колонка стеклянная 1 м х 3 мм, заполненная хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30.

Температура колонки 230°C, испарителя 240°C, детектора 320°C

Скорость газа-носителя (азот) через колонку 45 см³/мин.

Шкала электрометра 8х10¹⁰.

Объем вводимой пробы 1 мкл.

Время удерживания диниконазола 1 мин 55 сек.

2. Колонка стеклянная 1 м х 3 мм, заполненная хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% XE-60.

Температура колонки 220⁰С, испарителя 240⁰С, детектора 320⁰С
Скорость газа-носителя (азот) через колонку 45 см³/мин.
Шкала электрометра 8х10¹⁰.
Объем вводимой пробы 1 мкл.
Время удерживания диниконазола 2 мин 25 сек
Линейный диапазон детектирования 0.1 – 2 нг.

2.6.6. Обработка результатов анализа

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

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

где H₁– высота (площадь) пика диниконазола в стандартном растворе, мм;

H₂– высота (площадь) пика диниконазола в анализируемой пробе, мм;

V – объём экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

P – навеска анализируемого образца, г;

C – концентрация диниконазола в стандартном растворе, мкг/мл.

Содержание остаточных количеств диниконазола в анализируемом образце вычисляют как среднее из 3-х параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор диниконазола 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 газового хроматографа и электрооборудования до 400 В.

4. Разработчики.

Долженко В.И., Цибульская И.А., Блинова Т.Ф.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР).

196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, д.3. Телефон 470-41-98.