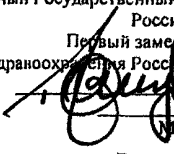


УТВЕРЖДАЮ
Главный Государственный санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель Министра
здравоохранения Российской Федерации

Г. Г. ОНИЩЕНКО
2004 г.
МУК 4.1.1995 -04
Дата введения:

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания
по определению остаточных количеств Пиримифос-метила в ягодах и масле
облепихи.

1. Вводная часть.

Фирма производитель: ООО «Сингента».

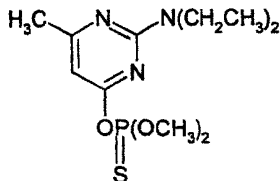
Торговое название: Актеллик.

Название действующего вещества по ИСО: Пиримифос-метил.

Название по ИЮПАК: О-2-диэтиламино-6-метилпиримидин-4-ил-О,О-диметил-фосфоротиоат.

Эмпирическая формула: $C_{11}H_{20}N_3O_3PS$.

Структурная формула:



Молекулярная масса: 305,3.

Химически чистый Пиримифос-метил представляет собой жидкость соломенного цвета.

Давление паров: 2 мПа при 20°C, 15 мПа при 30°C.

Растворимость в воде: 9,9 (рН 5,2), 8,6 (рН 7,3), 9,3 (рН 9,3) мг/л при 30°C. Хорошо растворим в большинстве органических растворителей: спиртах, кетонах, эфирах, хлорированных углеводородах.

$K_{ow} \log P = 4.2$ (20°C, не ионизированная форма).

Константа диссоциации $pK_a = 4.30$.

Стабильность в водной среде зависит от рН (ДТ₅₀ – 2 – 117 дней), наиболее стоек при рН – 7,0. Фотолитически не стабилен, ДТ₅₀ в воде при солнечном свете менее 1 часа.

37

Краткая токсикологическая характеристика: Пиримифос-метил относится к веществам малоопасным по острой оральной (ЛД₅₀ крысы –1414 мг/кг) и дермальной (ЛД₅₀ кролики – более 2000 мг/кг) токсичности и умеренно опасным по ингаляционной токсичности (ЛД₅₀ крысы – 4 часа - более 5040 мг/м³). Оказывает слабое раздражающее действие на глаза и кожу (для кроликов).

Высоко токсичен для пчел и других полезных насекомых. СК₅₀ для различных пород рыб: 0,64-1,4 мг/л.

В России установлены следующие гигиенические нормативы

ДСД для человека – 0,01 мг/кг/сут.

ПДК в воде водоема – 0,01 мг/дм³

ПДК в почве – 0,5 мг/кг

МДУ (мг/кг):

зерно хлебных злаков – 0,1

томаты, огурцы - 0,2;

ВМДУ (мг/кг):

горох, зерно хлебных злаков в момент обработки- 5,0

дыня, перец, баклажаны, свекла сахарная – 0,2

брюква, турнепс, капуста, сельдерей (зелень), персики, виноград, чай - 0,5

картофель, редис, сельдерей (корень), морковь – 0,05

цитрусовые (мякоть) – 0,1

рис, табак – 1,0

В ягодах и шампиньонах остаточные количества Пиримифос-метила не допускается.

Область применения препарата: Пиримифос-метил – инсектицид и акарицид контактного и фумигационного действия из группы эфиров тиофосфорной кислоты, ингибиторов ацетилхолинэстеразы, обладающий глубинным эффектом и непродолжительным защитным действием. Высокоэффективен против сосущих, минирующих и грызущих насекомых, а также подвижных стадий клещей.

Зарегистрирован в России под торговым названием Актеллик, к.э. (500 г/л), для применения на пшенице и рисе, горохе, сахарной свекле, картофеле, кормовых бобовых, овощных и бахчевых культурах открытого и защищенного грунта, на плантациях винограда, ягодных, лекарственных и декоративных культур с нормой расхода препарата от 0,3 - 5,0 л/га (до 3-х обработок за сезон).

2. Методика определения остаточных количеств Пиримифос-метила
в ягодах и масле облепихи.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Методика основана на определении Пиримифос-метила методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора после его экстракции из растительных проб ацетонитрилом, переэкстракции в гексан и очистки на колонках с Флоризилом.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании выше упомянутых культур.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода.

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1-3.

Таблица 1.

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $p = 0,95; n = 20$				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего результата %, \pm
1	2	3	4	5	6
ягоды	0,05	0,05-0,5	80,63	1,33	2,24
масло	0,10	0,10-1,0	75,1,	1,29	2,03

Таблица 2.

Доверительный интервал и полнота определения Пиримифос-метила
в ягодах и масле облепихи.

Среда	Добавлено Пиримифос- метила, мг/кг.	Обнаружено Пиримифос- метила, мг/кг	Довери- тельный интервал, \pm	Полнота оп- ределения, %
ягоды	0,05	0,041	0,004	81,6
	0,1	0,080	0,005	80,1
	0,2	0,159	0,017	79,3
	0,5	0,407	0,021	81,5
масло	0,1	0,076	0,008	76,2
	0,2	0,146	0,006	72,9
	0,4	0,304	0,026	76,1
	1,0	0,751	0,036	75,1

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование.

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы.

Пиримифос-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,6%.

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон, ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Натрий серноокислый, безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76.

Флоризил для колонночной хроматографии, зернение 60/100 меш, фирмы Флюка

Эфир диэтиловый, х.ч., ГОСТ 6225-74.

2.2.2. Приборы, аппаратура, посуда.

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081 – 73 или аналогичный.

Баня водяная, ТУ 46-22-603-75.

Банки с крышками для экстракции на 250 мл, полипропилен, кат. №3120-0250, NALGENE.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные

Воронки делительные на 250 мл, ГОСТ 23336-82.

Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

Испаритель ротационный, вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.

Колбы конические плоскодонные на 250 мл, КПШ-250 ГОСТ 10394-72.

Колбы мерные на 10, 25, 50, 100 мл, ГОСТ 1770-74.

Колонки пластиковые для адсорбционной хроматографии длиной 15 см, диаметр 1,5 см.

Колонка газохроматографическая капиллярная кварцевая DB-1701 длиной 15 м, с внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Концентраторы грушевидные на 100 и 250 мл НШ29 КГУ-100 (250), ГОСТ 10394-72.

Микрошприц на 10 мкл, ТУ Е-2.833.0.24.

Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.

Пипетки мерные на 1,0, 2,0 и 5,0 мл, ГОСТ 20292-74.

Стаканы химические на 100 мл, ГОСТ 25336-82 Е.

Фильтры бумажные "Красная лента" ТУ 6-09-1678-86.

Хроматограф газовый "Кристалл 2000 М" с термомонным детектором с пределом детектирования по азоту в азобензоле - 5×10^{-13} или аналогичный.

Цилиндры мерные емкостью 25, 50 и 100 мл, ГОСТ 1770-74.

2.3. Подготовка к определению.

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонок для газожидкостной хроматографии.

Колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе гелия при температуре на 20°C ниже предельного значения для выбранной неподвижной фазы в течение 8-10 часов.

2.3.2. Приготовление стандартных растворов.

Взвешивают 50 мг Пиримифос-метила в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном (стандартный раствор № 1, концентрация 1 мг/мл). Стандартный раствор № 1 можно хранить в холодильнике в течение 6 месяцев.

Методом последовательного разбавления готовят стандартные растворы Пиримифос-метила в ацетоне с концентрацией 0,25; 0,5; 1,0; 2,5 мкг/мл для построения калибровочного графика и внесения в контрольный образец.

Подобным образом готовят раствор Пиримифос-метила в гексане с концентрацией 1,0 мкг/мл для проверки хроматографического поведения аналитического стандарта на колонке с Флоризилом.

2.3.3. Подготовка колонки с Флоризилом.

В пластмассовую колонку длиной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно чистую стекловату и заполняют колонку 5 г Флоризила 60/100 меш, уплотняя его путем вибрации колонки. На слой Флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. За день до определения Флоризил в колонке промывают 20 мл смеси гексан:эфир – 1:1, а в день определения – 10 мл гексана.

2.3.4. Проверка хроматографического поведения Пиримифос-метила на колонке.

В подготовленную колонку вносят 1 мл стандартного раствора Пиримифос-метила в гексане с концентрацией 1,0 мкг/мл (раздел 2.3.2) и 4 мл гексана. Колонку промывают 5 мл гексана. Смыв отбрасывают. После этого пропускают через колонку 4-5 порций смеси гексан:эфир (1:1) по 5 мл каждая, собирая их в отдельные концентраторы. Собранные фракции выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы. Фракции, содержащие Пиримифос-метил, объединяют, выпаривают досуха. Сухой остаток вновь растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смыва с колонки и необходимый для очистки объем элюата.

2.4. Отбор проб.

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микрочисел пестицидов" (№ 2051-79 от 21.08.79). Пробы ягод облепихи хранят в запаянных пластиковых пакетах в замороженном виде, пробы масла хранят в плотно закрытой стеклянной или пластиковой таре в холодильнике.

2.5. Описание определения.

2.5.1. Ягоды.

Навеску измельченного материала – 10 г помещают в пластиковую банку с крышкой емкостью 250 мл и заливают 50 мл ацетонитрила. Встряхивают 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в концентратор емкостью 250 мл. Экстракцию повторяют еще два раза, заливая пробу 30 мл ацетонитрила, и, встряхивая каждый раз по 15 минут. Экстракты отфильтровывают в тот же концентратор. Объединенный фильтрат упаривают до объема 5-10 мл при температуре не выше 40°C.

Остаток разводят 100 мл 2% водного раствора хлористого натрия, обмывают стенки концентратора и переносят его содержимое в делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют в делительную воронку 30 мл гексана и экстрагируют Пиримифос-метил, встряхивая

воронку 1-2 минуты. После разделения слоев нижний водный слой сливают в стакан, а верхний гексановый слой собирают в чистый концентратор, пропуская через безводный сульфат натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз 30 мл гексана, и собирая гексан в тот же концентратор. Объединенные экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°C. Сухой остаток в концентраторе растворяют в 5 мл гексана и проводят очистку пробы на колонке с Флоризилом.

2.5.1.1. Очистка на колонках с Флоризилом.

В подготовленную (как указано в разделе 2.3.3) колонку с Флоризилом переносят содержимое концентратора. Концентратор ополаскивают 5 мл гексана и пропускают гексан через колонку. Смыв отбрасывают. Пиримифос-метил элюируют 15 мл смеси гексан:эфир – 1:1. Экстракт собирают в чистый концентратор и выпаривают его досуха на ротационном вакуумном испарителе. Сухой остаток разводят в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы.

2.5.2. Масло.

Навеску масла 5 г помещают в стеклянный стакан емкостью 100 мл и разводят в 50 мл гексана. Содержимое стакана переносят в делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют в воронку 100 мл ацетонитрила, подогретого до температуры 40°C, и встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой сливают в коническую колбу, а верхний слой оставляют в делительной воронке. Добавляют туда 50 мл подогретого ацетонитрила и встряхивают 2 минуты. Ацетонитрильный экстракт сливают в ту же колбу. Экстракцию повторяют еще раз с тем же объемом ацетонитрила.

Объединенный ацетонитрильный экстракт переносят в чистую делительную воронку, добавляют туда 30 мл гексана и промывают ацетонитрил, встряхивая воронку 1-2 минуты. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой отфильтровывают в концентратор через безводный сульфат натрия. Гексановую фракцию промывают 25 мл ацетонитрила, ацетонитрил сливают в тот же концентратор. Гексан отбрасывают. Объединенный ацетонитрильный экстракт выпаривают досуха.

Сухой остаток в концентраторе разводят в 5 мл гексана и переносят на колонку с Флоризилом. Далее проводят очистку пробы на колонке, как указано в разделе 2.5.1.1. Очищенную пробу растворяют в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов.

2.6.1. Условия хроматографирования.

Хроматограф «Кристалл 2000 м» с термоионным детектором (ТИД) с пределом детектирования по азоту в азобензоле $5 \cdot 10^{-13}$ г/см³ или аналогичный.

Колонка капиллярная кварцевая DB-1701; длиной 15 м с внутренним диаметром 0,32 мм; толщина пленки 0,25 мкм.

Режим работы.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 160°C, выдержка 2 минуты; нагрев колонки по 15 градусов в минуту до температуры 230°C, выдержка 5 минут; нагрев колонки по 30 градусов в минуту до температуры 250°C.

Газовый режим – Split less.

Газ-носитель – гелий (Г1). Тип регулятора расхода гелия – РРГ 11, линейная скорость – 21 см/сек, давление на входе 28,66 кПа.

Газ 2 (Г2) – гелий (продувка испарителя), расход 1,0 мл/мин, сброс 1:30.

Газ 3 (Г3) – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 35 мл/мин.

Продувка системы после анализа при температуре 250°C в течение 3 минут: продувка испарителя гелием – 55 мл/мин; продувка детектора азотом – 55 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Пиримифос-метила – 6 мин 41 сек.

Температура испарителя - 260°C, детектора - 350°C.

Расход водорода – 15 мл/мин; расход воздуха – 180 мл/мин.

Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,25-2,5 нг.

2.6.2. Обработка результатов анализов.

Содержание Пиримифос-метила в пробах ягод и масла облепихи рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{N_1 \cdot A_{std}}{N_0 \cdot m} \cdot P$$

X - содержание Пиримифос-метила в пробе, мг/кг;

N₁ - площадь пика образца, мВ;

N₀ - площадь пика стандарта, мВ;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования (мл);

m - масса или объем анализируемого образца, г или мл.

P - содержание Пиримифос-метила 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, Калинина Т.С., ст.н. сотр., канд. с-х. наук, Фролова Н.С., ст. инж.

Московская сельскохозяйственная академия имени 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.

