

ГОСУДАРСТВЕННОЕ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СБОРНИК

**МЕТОДИЧЕСКИХ ДОКУМЕНТОВ,
НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ПРИМЕНЕНИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКОНА
ОТ 12.06.08 №88-ФЗ**

**«Технический
регламент
на молоко
и молочную
продукцию»**

Часть 13

МОСКВА 2010

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

**Сборник методических документов,
необходимых для обеспечения
применения Федерального закона
от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ
«Технический регламент на молоко
и молочную продукцию»**

Часть 13

ББК 51.23
С23

С23 Сборник методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию».—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010.—78 с.

ISBN 5—7508—0771—1

В сборник включены методические документы, содержащие правила и методы исследований (испытаний) и измерений, а также правила отбора образцов для проведения исследований (испытаний) и измерений, в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г. Г. Онищенко от 08.12.2008 № 67.

ББК 51.23

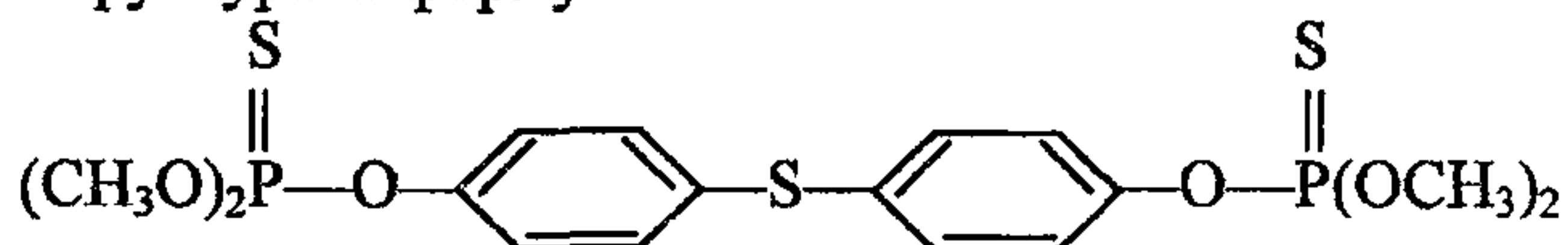
© Роспотребнадзор, 2010
© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Главного
государственного
санитарного врача СССР
А. И. ЗАИЧЕНКО
28 декабря 1982 г.
№ 2648-82

**Методические указания
по определению дифоса (аббата)
в продуктах животного происхождения
методом тонкослойной хроматографии
(дополнение к № 1350-75)**

1. Характеристика анализируемого пестицида

Дифос /0,0,0',0'-тетраметил 0,0',-тио-ди(парафенил)тиофосфат/
Структурная формула:



Эмпирическая формула — $C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$.

М.м. 466

Синонимы: абат, абат500 Е, абат 4Е, ОМ S-736.

Химически чистое вещество — белые кристаллы. Технический препарат — коричневая жидкость, содержащая 90—95 % действующего вещества. Препарат нерастворим в воде, хорошо растворяется в органических растворителях (ацетоне, гексане, хлороформе, эфире, ацетонитриле). Устойчив к воздействию, слабых щелочей (при pH 8 и температуре 20 °C не гидролизует в течение нескольких недель). Выпускается в форме 30 % к.э. Зарубежный аналог дифоса — абат выпускается в форме 50 % к.э. и 25 % о.п. Относится к малотоксичным соединениям. ЛД₅₀ при введении препарата в желудок белых крыс составляет 1 360—2 300 мг/кг, для белых мышей — 460 мг/кг. Проникает через кожу. Для кроликов при накожном нанесении ЛД₅₀ 970—1 930 мг/кг. Раздражающее действие выражено слабо. Коэффициент кумуляции — 5,7.

Применяется в качестве инсектицида контактно-кишечного действия. Высокоэффективен в борьбе с личинками комаров, мух, а также с вредными насекомыми домашних животных. Эффективен и для защиты

сельскохозяйственных культур от вредных клопов, трипсов и других насекомых. ДОК в сахарной свекле, овощах, цитрусовых и хлопковом масле – 0,3 мг/кг, в мясе и яйце – 1 мг/кг, в молоке – не допускается.

2. Методика определения дифоса в продуктах животного происхождения методом тонкослойной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении препарата из тканей животного ацетоном, осаждении коэкстрактивных веществ из водно-ацетонового раствора уксуснокислым свинцом на холоду, последующем переэкстрагировании дифоса в гексан, хроматографировании на пластинках «силуфол» в двух системах растворителей: Н-гексан–ацетон и диэтиловый эфир–Н-гексан. Для проявления хроматограмм применяют раствор бромфенолового синего и азотнокислого серебра с последующей обработкой лимонной кислотой. Количественное определение проводят путем визуального сравнения интенсивности окраски и размера пятен препарата из анализируемых проб стандартных растворов

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

- Диапазон определения концентраций 0,2—25 мкг дифоса в анализируемой пробе;
- Предел обнаружения – 0,2 мкг или 0,02—0,05 мг/кг (мг/л);
- Размах варьирования – 70—90 %;
- Среднее значение определения стандартных количеств дифоса – 79,8 %;
- Стандартное отклонение – 4,8;
- Относительное стандартное отклонение – 0,06;
- Доверительный интервал среднего при $P = 0,95$ и $n = 10$ – 79,8 %.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, чда	ГОСТ 2603—79
Н-гексан, хч	ТУ 6-09-3375—78
Эфир диэтиловый (для наркоза)	
Натрий сернокислый безводный, чда	ГОСТ 4166—76
Натрий едкий, хч	ГОСТ 4328—66
Уксусная кислота (ледяная), чда	ГОСТ 61—69
Свинец уксуснокислый или свинец уксуснокислый основной, чда	ТУ 6-09-4140—76
Лимонная кислота, чда	ГОСТ 3652—69

Бромфеноловый синий, чда
Серебро азотнокислое, ч
Дифос – стандартный раствор в ацетоне,
содержащий 100 мкг/мл препарата

ТУ МГ УХП 271—59
ГОСТ 1277—75

2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Пластины «Силуфол» производства ЧССР
Центрифуга лабораторная стационарная ИЛС-3
или аналогичная (объем стаканов 80—100 мл)
Шкаф вытяжной
Шкаф сушильный
Аппарат для встряхивания АВУ-I или аналогичный
Весы технические
Весы торсионные тип ВТ
Посуда химическая:
/колбы конические с притертыми пробками –
100 мл; воронки делительные – 200 мл; воронки
конические – 5 см; пробирки мерные – 10 мл;
цилиндры – 10, 50, 100 мл; пипетки, микропипет-
ки, стаканы химические/
Чашки фарфоровые выпарительные дм 5—7 см
Камеры хроматографические
Камера для опрыскивания хроматограмм
Опрыскиватели стеклянные

ТУ 64-1-900—77
ГОСТ 23932—79Е

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление 20 % водного раствора уксуснокислого свинца.
20 г уксуснокислого свинца растворяют в 80 мл дистиллированной во-
ды. При использовании основного уксуснокислого свинца 20 г его рас-
творяют при легком подогревании в 80 мл 5 % уксусной кислоты и рН
раствора доводят едким натрием до 5,4—5,6. Хранят в закрытой посуде.

2.4.2. Приготовление 10 % водного раствора уксусной кислоты.

10 мл ледяной уксусной кислоты смешивают с 90 мл дистиллиро-
ванной воды.

2.4.3. Приготовление проявляющего реактива.

Реактив 1,25 мг бромфенолового синего растворяют в 5 мл ацетона
и объем доводят до 50 мл 0,25 % раствором азотнокислого серебра
/0,125 г азотнокислого серебра растворяют в 15 мл дистиллированной
воды и добавляют 35 мл ацетона/. Хранят в закрытой посуде из темного
стекла при температуре 4—6 °С в течение месяца.

Реактив 2,2 % раствор лимонной кислоты. 2 г лимонной кислоты растворяют в 98 мл дистиллированной воды. Хранят в закрытой посуде при температуре 4—6 °С в течение 5—6 дней.

2.4.4. Отбор проб производят в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» утвержденных Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР 21.08.1979 за № 2051-79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция и очистка экстрактов.

Навеску мяса, печени, почек, легких, сердца по 10 г, жира 2—3 г измельчают ножницами и помещают в колбу с притертой пробкой, молока берут 10 мл. Пробы заливают 30 мл ацетона, тщательно перемешивают и экстрагируют на аппарате для встряхивания в течение 80 мин. Ацетоновый экстракт фильтруют в чистую колбу через воронку с ватным фильтром. Проб промывают 10 мл ацетона и пропускают через тот же фильтр. К объединенному ацетоновому экстракту приливают 20 мл дистиллированной воды. 2 мл раствора уксуснокислого свинца и помещают в испаритель холодильника на 1 час. /Экстракты жира лучше оставлять в испарителе холодильника на ночь/. После этого содержимое переносят в центрифужные стаканы и центрифугируют на протяжении 3—5 мин при частоте вращения 3 000 мин⁻¹. Надосадочную жидкость сливают в чистую делительную воронку. /Если на поверхности экстракта имеются взвешенные частицы, его дополнительно фильтруют через воронку с ватным фильтром/. В делительную воронку добавляют 10 мл 10 % уксусной кислоты и 60 мл дистиллированной воды. Дифос реэкстрагируют из этой смеси трижды Н-гексаном, используя каждый раз по 10 мл экстракта. При плохом разделении слоев, в связи с образованием эмульсии, добавляют 5 мл насыщенного раствора натрия сернокислого. Объединенные гексановые экстракты сушат над натрием сернокислым безводным в течение 10—15 мин. Упаривание экстракта проводят в вытяжном шкафу при комнатной температуре до объема 0,2—0,3 мл.

2.5.2. Хроматографирование.

Сконцентрированный гексановый экстракт наносят на пластинку «силуфола» на расстоянии 1,5 см от нижнего края и 3,5 см от правого вертикального края. Диаметр нанесенного пятна не должен превышать 0,5 см.

Для выявления дифоса используют двухмерную хроматографию. Сначала пластинку помещают в хроматографическую камеру горизонтально /на левый край/, куда налита смесь ацетона с гексаном /1 : 5/. После того, как фронт растворителей пройдет всю пластинку её подсушивают на воздухе и данную процедуру повторяют ещё дважды.

Слева от нанесенной пробы наносят на пластинку стандартный раствор дифоса. Пластинку помещают в вертикальном положении в камеру со смесью растворителей эфир–Н-гексан /1 : 2/. Общий объем подвижных растворителей в камере подбирают таким образом, чтобы хроматографические пластинки погружались на 0,4—0,5 см. После того, как фронт растворителей поднимется на высоту 10 см от старта, пластинку вынимают и сушат на воздухе.

2.5.3. Проявление.

После испарения растворителей пластинку опрыскивают бромфеноловым синим с азотнокислым серебром и помещают на 5 мин в сушильный шкаф при температуре 30°C. Затем пластинку опрыскивают раствором лимонной кислоты. Дифос проявляется в виде синих пятен на лимонно-желтом фоне. На обработку одной пластинки расходуют по 3—5 мл проявляющих реактивов. Величина R_f составляет 0,32.

2.6. Обработка результатов

Количество дифоса в анализируемой объеме определяют путем сравнения площади и интенсивности окраски пятна пробы и стандартных растворов препарата с использованием формулы:

$$X = \frac{A}{M} 1,25 \cdot \frac{100}{K} \text{ мг/кг или мг/л, где}$$

X – количество препарата в исследуемом материале /мг/кг; мг/л/;

A – количество препарата, выявленное на пластинке /мкг/;

M – масса исследуемой пробы /г, мл/;

1,25 – поправка с учетом потерь пестицида в процессе анализа.

3. Требования безопасности

Соблюдаются требования безопасности, рекомендуемые при работе с химическими реактивами.

Настоящие методические указания составлены, по материалам Украинского ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии /Шуляк В. Д., Зайцева Л. Д., Малинин О. А. и Ярошенко В. И./.

Содержание

Временные методические указания по определению байгона методом газожидкостной хроматографии в молоке.....	3
Методические указания по определению дифоса (аббата) в продуктах животного происхождения методом тонкослойной хроматографии (дополнение к № 1350-75)	11
Методические указания по избирательному газохроматографическому определению хлорорганических пестицидов в биологических средах (моче, крови, жировой ткани и грудном женском молоке).....	16
Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания Т-2 токсина в пищевых продуктах и продовольственном сырье.....	26
Унифицированная методика определения остаточных количеств фосфорорганических пестицидов	33

**Сборник методических документов, необходимых для обеспечения
применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ
«Технический регламент на молоко и молочную продукцию»**

Часть 13

Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 26.01.10

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 5,0

Заказ 1

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89