

Министерство здравоохранения Российской Федерации
(Минздрав России)

**Федеральное медико-биологическое агентство
(ФМБА России)**

Система стандартизации в здравоохранении Российской Федерации

Группа 12. Требования к профилактике заболеваний, защите здоровья населения
от повреждающих факторов, охране репродуктивного здоровья
и оказанию медико-социальной помощи

Выбор оптимальной схемы анализа пестицидных остатков

Методические рекомендации
МР ФМБА России 12.01-15

Москва 2015

ПРЕДИСЛОВИЕ

1. Разработаны Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России).

Директор – д.м.н. Е.Ю. Бонитенко,
заместитель директора – д.м.н. М.Б. Иванов.

2. Исполнители: к.х.н. И.К. Журкович, В.В. Человечкова, Н.В. Луговкина, В.А.Утсаль, В.Д. Гладилович.

3. В настоящем документе реализованы требования Законов Российской Федерации:

– Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 г. №323.

– Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30.03.1999 г. №52.

– Федеральный закон «О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера» от 21.12.1994 г. № 68.

– Федеральный закон «Об охране окружающей среды» от 10.01.2002 г. № 7.

4. Утверждены и введены в действие Федеральным медико-биологическим агентством «21» января 2015 г.

5. Введены впервые.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ	4
1. Область применения	6
2. Нормативные ссылки	7
3. Обозначения и сокращения	7
4. Описание метода	7
4.1. Материально-техническое обеспечение	7
4.2. Основные этапы оптимизации схемы аналитических методик	8
5. Эффективность применения методических рекомендаций	18
БИБЛИОГРАФИЯ	19
ПРИЛОЖЕНИЕ А (рекомендуемое) Получение производных, пригодных для анализа методом ГЖХ	20
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (рекомендуемое) Определение пестицидов методом ГЖХ	21
ПРИЛОЖЕНИЕ В (рекомендуемое) Закономерности оптимизации подготовки проб	22
ПРИЛОЖЕНИЕ Г (рекомендуемое) Закономерности выбора условий хроматографического анализа	23
СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ	25

ВВЕДЕНИЕ

Начиная с середины 20 века, синтетические пестициды интенсивно используются во всем мире с целью защиты урожайных сельскохозяйственных культур от болезней, вредителей и сорняков. При этом их остатки часто проникают в экологические системы и встраиваются в пищевые цепочки. В результате население всей планеты подвергается экспозиции малыми дозами пестицидов через окружающую среду и питание.

В настоящее время действуют международные нормативы, устанавливающие допустимые уровни пестицидов в воде [1], однако глобальное законодательство по их содержанию в продовольствии отсутствует. Перечни средств химической защиты растений, разрешенных к применению в разных странах, сильно различаются и постоянно пополняются новыми веществами. В этих условиях актуальным является динамичное расширение методической базы химического мониторинга пестицидных остатков, который предназначен не только для охраны здоровья населения, но и для гармонизации международной торговли и организации официального (например, таможенного) контроля.

Особенности современного пестицидного анализа связаны с химическим разнообразием аналитов и необходимостью измерять низкие уровни их содержания в сложных по составу объектах. Основным требованием, предъявляемым в данном случае к систематическому или целевому химико-токсикологическому анализу, является определение в пробе с высокой чувствительностью максимально широкого круга соединений при отсутствии ложных положительных результатов. Необходимое качество исследований может быть достигнуто при использовании универсальных или специфичных аналитических методик, допускающих гибкое регулирование их некоторых параметров.

В наше время химический анализ сложных объектов базируется на хроматографических методах. При этом стадии измерения предшествует специальная подготовка проб, предназначенная для удаления балластных веществ и перевода аналита в удобную для детектирования форму.

В настоящих методических рекомендациях описаны подходы для оптимального выбора процедур подготовки проб и параметров хроматографирования при целевом анализе пестицидов различных химических классов с применением

принципов современных физико-химических исследований многокомпонентных систем.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя
Федерального медико-
биологического агентства

В.Б. Назаров

« 21 » января 2015 г.

Система стандартизации в здравоохранении Российской Федерации

Группа 12. Требования к профилактике заболеваний, защите здоровья населения
от повреждающих факторов, охране репродуктивного здоровья
и оказанию медико-социальной помощи

Выбор оптимальной схемы анализа пестицидных остатков

МР ФМБА России 12. 01-15

1. Область применения

Настоящие методические рекомендации распространяются на химико-токсикологические исследования безопасности продуктов питания и объектов окружающей среды.

Документ устанавливает общий порядок выбора и оптимизации схемы анализа пестицидных остатков различной химической природы в продовольствии, воде и почве.

Методические рекомендации предназначены для контрольных лабораторий, осуществляющих экологический и санитарно-эпидемиологический надзор за качеством потребительских товаров.

2. Нормативные ссылки

В настоящем документе использована ссылка на нормативный документ:

– Постановление Правительства РФ от 27 октября 2008 г. № 791 о федеральной целевой программе «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)».

3. Обозначения и сокращения

ГЖХ – газожидкостная хроматография

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

УЗ-баня – ультразвуковая баня

ТФЭ – твердо-фазная экстракция

ПИД – пламенно-ионизационный детектор

ДЭЗ – детектор электронного захвата

ТИД – термоионный детектор

МС – масс-спектрометрия

4. Описание метода

4.1. Материально-техническое обеспечение

4.1.1. Химические реактивы

Ацетонитрил, сорт 0 (Криохром)

Метанол (Burdlich & Jackson)

Вода деионизованная

Трифторуксусная кислота (Fluka)

4.1.2. Растворы

Растворы стандартных образцов пестицидов с концентрацией 1 мкг/мл.

4.1.3. Материалы

Автоматические пипетки 100 и 1000 мкл (Biohit)

Пробирки Эппендорфа 1,5 мл

Штативы для пробирок Эппендорфа

Патроны концентрирующие OASIS HLB, 500 мг (Waters)

Вакуумные пробирки Vacuette 9 мл без добавок

Полипропиленовые виалы 250 мкл (Dionex)

Одноразовые концентрирующие колпачки, 3 мл (Varian)

Колбы мерные 5, 10 и 1000 мл

Колонка хроматографическая Ultrasphere ODS (250 × 2,0)мм, 5 мкм (Beckman)

4.1.4. Приборы

Жидкостный хроматограф с УФ-детектором	(Shimadzu)
Жидкостный хроматограф с масс-детектором	(Agilent)
Газожидкостный хроматограф с масс-детектором	(Shimadzu)
Весы аналитические	(Ohaus)
pH-метр	(Hanna)
Центрифуга лабораторная	
Установка для встряхивания образцов	(Hirana)
УЗ-баня	(Elma)
Термостат	
Ротационный испаритель	(Buchi)

4.2. Основные этапы оптимизации схемы аналитических методик

Разработка оптимальной процедуры целевого анализа пестицидов в различных объектах включает следующие основные этапы:

- рассмотрение структурных особенностей аналита;
- оценка основных физико-химических свойств аналита;
- оценка химической стабильности аналита в условиях стресс-тестов;
- выбор базового метода хроматографии;
- выбор наиболее рационального варианта подготовки проб;
- оптимизация условий хроматографирования и детектирования.

4.2.1. Рассмотрение структурных особенностей аналита

На этой стадии, исходя из структурной формулы, устанавливают присутствие в молекуле аналита фрагментов, оказывающих влияние на его поведение в процессе анализа, а также на выбор способа детектирования. При этом следует обращать внимание на следующие особенности:

- нейтральность или ионогенность молекулы аналита;
- наличие полярных функциональных групп (–CHO, –CO, –OH, –SH, –COOH, –COOR, –NH₂, –NH) или ковалентно связанных атомов галогенов;
- присутствие гетероатомов (особенно азота и фосфора), хромофоров и донорно-акцепторных фрагментов;
- склонность к окислительно-восстановительным реакциям.

Рассмотрение нейтральности молекулы аналита и присутствия в ней вышеперечисленных функциональных групп позволяет сделать первичный выбор между методами газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ГЖХ и ВЭЖХ) и определить свойства наиболее эффективного экстрагента.

Другие характеристики играют важную роль при выборе способа детектирования. В частности, в рамках метода ВЭЖХ наличие хромофоров позволяет использовать спектрофотометрический детектор, а окислительно-восстановительных фрагментов – электрохимический. В газожидкостной хроматографии донорно-акцепторные свойства аналита определяют выбор детектора электронного захвата, а присутствие атомов азота и фосфора – термоионного.

4.2.2. Оценка основных физико-химических свойств аналита

Наиболее важными свойствами аналита, которые необходимо изучить в данном разделе, являются температура кипения, растворимость в воде и органических растворителях, а также кислотно-основные свойства.

Температура кипения пестицида является главным критерием при выборе метода ГЖХ. Ее определяют с помощью справочных данных или экспериментальным путем.

Данные по растворимости аналита позволяют ориентироваться при выборе экстрагента, а также растворителя, используемого на стадии очистки первичного экстракта. Процесс растворения и жидкостная экстракция аналитов из твердых образцов зависят от таких межмолекулярных взаимодействий, как сольватация, образование донорно-акцепторных комплексов и водородных связей. В последнем случае имеет место наиболее сильное взаимодействие между молекулами растворяемого вещества и растворителя. В этой связи на практике удобно пользоваться классификацией Эвела [2], в которой различают пять групп растворителей:

- растворители, способные образовывать прочные водородные связи (вода, гликоль, глицерин, amino- и оксикислоты);
- соединения, содержащие активные атомы водорода или полярные группы с атомами азота или кислорода (спирты, карбоновые кислоты, фенолы, амины);

- соединения без активных атомов водорода, но с полярными группами, содержащими азот или кислород (эферы, кетоны, третичные амины, нитросоединения);

- растворители, содержащие только активные атомы водорода (хлороформ, хлористый метилен, дихлорэтан);

- соединения не способные образовывать водородные связи (углеводороды, четыреххлористый углерод, сероуглерод).

Таким образом, в процессе исследования необходимо получить сведения о растворимости пестицида в воде, кислых и щелочных растворах и органических растворителях различной полярности. В свете вышеизложенного в последнем случае для испытаний целесообразно выбрать из элюотропного ряда [3] несколько растворителей, характеризующихся низким, средним и высоким коэффициентом элюирования с учетом структурных особенностей аналита, установленных в п. 4.2.1.

Кроме эффективного растворения аналита применяемые в аналитической химии экстрагенты должны также отличаться химической инертностью и невысокой температурой кипения [4].

Данные о растворимости аналита в кислых или щелочных растворах позволяют установить, является ли он электролитом. Дополнительную информацию о кислотно-основных свойствах пестицида получают с помощью рН-метрии его водного раствора. Значения рН ниже, чем 5,0, полученные для 1% раствора, свидетельствуют о кислотных свойствах растворенного вещества, а выше, чем 8,0 – об основных.

4.2.3. Оценка химической стабильности аналита в условиях стресс-тестов

Изучение химической стабильности аналита помогает принять решение при выборе метода ГЖХ, а также оценить возможное влияние реакций гидролиза и их катализа на поведение аналита в процессе анализа или в окружающей среде.

Для получения быстрого результата рекомендуется проводить испытания с помощью стресс-тестов в следующих условиях:

- концентрация пестицида: 5мкг/мл;

- рН раствора: кислый, нейтральный и щелочной (для растворения используют соответственно 0,01 М раствор соляной кислоты, воду и 0,01 М раствор гидроксида натрия);

- температура: 80° С;

– срок хранения: от 1 до 8 суток.

Хранение растворов осуществляют в герметично запаянных стеклянных ампулах. По окончании хранения определяют количественное содержание пестицида методом внешнего стандарта и производят оценку его термической стабильности и скорости реакций гидролиза в кислой, нейтральной и щелочной среде.

4.2.4. Выбор основного метода хроматографии

Первичный выбор осуществляется между методами ГЖХ и ВЭЖХ на основании данных, полученных в пп. 4.2.1 – 4.2.3. Метод ГЖХ используют в тех случаях, когда аналит термически стабилен и способен переходить в газообразное состояние при температуре не выше 350-400 °С. Этим условиям удовлетворяет всего около 10% известных органических соединений. Расширение области применения ГЖХ возможно при использовании направленных химических превращений аналита, с помощью которых нелетучие соединения переводят в летучие, а неустойчивые – в устойчивые. Однако включение в процедуру анализа дополнительной стадии дериватизации обычно ухудшает метрологические характеристики методики в целом. В приложении А представлены наиболее широко применяемые реакции дериватизации, реагенты и образующиеся производные веществ, содержащих полярные функциональные группы, отмеченные в п. 4.2.1.

В отличие от ГЖХ, метод ВЭЖХ более универсален и единственным критерием его применимости является способность к растворению.

4.2.5. Выбор наиболее рационального варианта подготовки проб

Подготовка проб в химическом мониторинге пестицидных остатков играет важную роль, поскольку влияет на чувствительность и селективность определения, а также на правильность результатов анализа. В традиционном варианте процедура включает следующие основные стадии:

- измельчение пробы;
- экстракция аналита;
- очистка экстракта;
- концентрирование пробы.

Каждая из перечисленных операций оптимизируется с учетом молекулярных и физико-химических особенностей определяемого вещества.

Внедрение в практику химического мониторинга пестицидных остатков чувствительных и селективных методов хроматомасс-спектрометрии позволило рационализировать классическую схему подготовки проб и исключить стадию концентрирования. Новый подход получил название QuEChERS как аббревиатура от английских слов: быстрый, легкий, дешевый, эффективный, надежный и безопасный. Используя коммерческие наборы реактивов и посуды можно подготовить к измерению 8 проб за 30 минут.

4.2.5.1. Измельчение пробы

При измельчении пробы следует опасаться потери анализа за счет его летучести или гидролиза. На этой стадии необходимо учитывать такие факторы, как природа и химическая стабильность пестицида и матрицы, присутствие воды, а также активность ферментов и других реакционноспособных компонентов, выделяемых при разрушении клеток растений [5]. В проблемных случаях целесообразно использовать криогенную гомогенизацию пробы, в которой образец измельчается в замороженном состоянии в присутствии сухого льда.

4.2.5.2. Экстракция анализа

При выборе экстрагента учитывается информация о растворимости анализа, полученная в п. 4.2.2. Эффективность однократной экстракции зависит от природы пестицида и растворителя, объема растворителя и температуры экстракции. Извлечение определяемых веществ из твердых образцов производят с помощью УЗ-бани, а из воды – методом жидкостной или твердо-фазной экстракции (ТФЭ).

Жидкостную экстракцию используют для распределения компонентов пробы между несмешивающимися жидкими фазами – водой и органическим растворителем. При этом фазы должны характеризоваться малой взаимной растворимостью и иметь значительные различия в плотности. На распределение анализа между водой и органическим растворителем влияют межмолекулярные взаимодействия, описанные в п. 4.2.2.

Процедура ТФЭ включает три стадии: сорбцию пестицида на неподвижной фазе после внесения пробы воды в концентрирующий патрон, заполненный подходящим сорбентом, промывку патрона с целью удаления балластных веществ и элюирование целевого анализа. Оптимизацию условий ТФЭ производят таким образом, чтобы растворимость определяемого вещества в растворителе,

используемом на стадии промывки патрона, была минимальной, а на стадии элюирования – максимальной. Стратегия выбора сорбента для ТФЭ аналогична той, что используется при хроматографическом анализе (смотри п. 4.2.6).

4.2.5.3. Очистка экстрактов

Для очистки первичных экстрактов используют гель-фильтрацию, колоночную хроматографию, а также жидкостную и твердофазную экстракцию.

В гель-фильтрации используют материалы с контролируемой пористой поверхностью, позволяющие сортировать молекулы в соответствии с их размером и формой. Метод удобен для удаления полисахаридов из проб растительного происхождения.

Колоночная хроматография предназначена для разделения сложных смесей за счет распределения веществ между подвижной и неподвижной фазами. Пробу вводят в подвижную фазу, которая движется относительно неподвижной фазы, помещенной в колонку. Различия в силе взаимодействия компонентов пробы с неподвижной фазой приводят к тому, что индивидуальные вещества пробы проходят через колонку с различной скоростью. Состав подвижной фазы зависит от природы сорбента (неподвижной фазы) и анализируемых веществ. При выборе оптимальных условий разделения удобно пользоваться элюотропными рядами, в которых растворители расположены в порядке возрастания элюирующей способности. В специальной литературе и в справочниках представлены соответствующие ряды для гидрофильных и гидрофобных сорбентов [6].

Если для очистки первичных экстрактов применяют жидкостную или твердофазную экстракцию, то следует руководствоваться стратегией, описанной в п. 4.2.5.2.

Недостатками колоночной хроматографии и жидкостной экстракции являются длительность операций и большой расход органических растворителей.

4.2.5.4. Концентрирование

Удаление растворителя из очищенной пробы производят с целью повышения чувствительности анализа или замены растворителя на более подходящий с точки зрения его физико-химических свойств на стадии измерения. Для этого используют перечисленные ниже способы упаривания:

- упаривание на горячей подставке;
- продувка азотом;

- ротационное испарение;
- применение установки Kuderna-Danish.

Процедура концентрирования может сопровождаться частичной, иногда значительной потерей аналита, которая зависит от таких факторов, как температура и скорость упаривания, геометрия колбы, а также образование аэрозолей [7]. При выборе оптимального способа и условий концентрирования основными критериями должны быть такие показатели, как степень обнаружения, ее воспроизводимость и время упаривания.

4.2.5.5. Подготовка проб по методу QuEChERS

В данном методе для каждой аналитической операции классической процедуры пробоподготовки найдена более простая альтернатива. Например, вместо фильтрования предложено использовать центрифугирование, а вместо твердо-фазной экстракции на патронах – дисперсионную твердофазную экстракцию. Суть двухстадийной подготовки проб заключается в том, что экстракция и распределение происходит в одной и той же емкости, изготовленной из инертного органического материала, в присутствии большого количества специально подобранных солей. Эти добавки, благодаря солевым и буферным эффектам, влияют на оба процесса. Очистку полученного экстракта производят с помощью подходящего сорбента, вносимого непосредственно в пробу [8]. Метод особенно эффективен при определении среднеполярных пестицидов с гидрофобными свойствами.

Основные закономерности выбора рациональной схемы подготовки проб для анализа пестицидов различных классов обобщены в приложении В.

4.2.6. Оптимизация условий хроматографирования и детектирования

4.2.6.1. Выбор условий хроматографирования

Отличительной чертой ГЖХ является то, что здесь подвижная фаза – инертный газ – выполняет только функцию переносчика компонентов пробы и не играет самостоятельной химической роли. В связи с этим число вариантов анализа весьма ограничено. Как правило, их выбор сводится к оптимизации температурного режима и типа неподвижной фазы. Газохроматографическое разделение пестицидов обычно проводят на капиллярных колонках с силиконовой жидкой неподвижной фазой в режиме программирования температуры от 50 до 250 °С. Для повышения надежности

идентификации рекомендуется использовать две колонки с неподвижными фазами разной полярности.

Метод ВЭЖХ применим для анализа широкого круга веществ, благодаря возможности варьировать не только природу сорбента, но и состав подвижной фазы. В совокупности они определяют типы межмолекулярных взаимодействий, возникающих в процессе хроматографирования. В жидкостной хроматографии низкомолекулярных органических веществ выделяют два основных механизма разделения: адсорбционный и распределительный.

В первом случае неподвижной фазой является твердый сорбент, а подвижная фаза представляет собой смесь органических растворителей. Адсорбционная хроматография используется преимущественно для разделения неполярных соединений, пространственных изомеров, а также группового разделения, например, алифатических углеводородов и спиртов. Во втором случае в качестве неподвижной фазы используют сорбенты с химически модифицированной поверхностью. Для нормально-фазовой хроматографии к носителю (силикагелю) прививают полярные функциональные группы (фенильную, нитрильную, аминогруппу или диольную). Однако более популярны обращенные неподвижные фазы с привитыми алкильными группами (октил- или октадецил), которые придают поверхности сорбента гидрофобные свойства.

В качестве подвижной фазы для анализа нейтральных органических соединений на обращенной фазе рекомендуется использовать смеси ацетонитрила или метанола с водой. Указанные растворители являются оптимальными органическими модификаторами с точки зрения их гидродинамических свойств [9].

При анализе ионогенных соединений (аминов, четвертичных азотистых соединений и карбоновых кислот) дополнительно регулируют величину рН подвижной фазы таким образом, чтобы перевести аналит в равновесную форму, и, кроме того, добавляют ион-парный реагент, который при диссоциации генерирует гидрофобный противоион. В результате разделяемые компоненты хроматографируются в виде ионных пар, которые лучше удерживаются обращенной неподвижной фазой и дают более симметричные пики.

Таким образом, азотистые основания целесообразно анализировать при рН водной компоненты подвижной фазы в диапазоне от 3 до 5, когда они существуют в

протонированной форме, а в качестве ион-парного реагента использовать соли фосфорной или хлорной кислоты, а также органические кислоты (уксусную, муравьиную, трифторуксусную).

Карбоновые кислоты, напротив, лучше хроматографировать при рН от 6 до 8 в присутствии соли четвертичного азотистого соединения (например, тетрабутиламмония гидросульфата).

4.2.6.1. Выбор способа детектирования

Способ детектирования в процессе хроматографического анализа выбирают на основании данных, полученных в п.4.2.1.

4.2.6.1.1. Метод ГЖХ

При анализе методом ГЖХ наиболее часто используют пламенно-ионизационный детектор (ПИД), который способен регистрировать любые органические соединения, содержащие связи С-С или С-Н. Для селективной регистрации галогенорганических соединений целесообразно применять детектор электронного захвата (ДЭЗ). Термоионный детектор (ТИД) высокоспецифичен по отношению к соединениям азота и фосфора.

Наиболее современным способом детектирования является масс-спектрометрия (МС). При сочетании ГЖХ-МС разделяемые в хроматографической колонке индивидуальные вещества подвергаются ионизации электронным ударом. Образующиеся при этом ионы идентифицируются по массам с помощью специальных библиотек. МС-детекторы можно использовать как в режиме селективного детектирования, настроенного только на одну массу, так и регистрации полного ионного тока всех образующихся ионов. С этой точки их можно рассматривать одновременно как селективные, так и универсальные.

Более подробная информация о применении разных типов детекторов при анализе пестицидных остатков методом ГЖХ приведена в приложении Б.

4.2.6.1.2. Метод ВЭЖХ

Детекторы для ВЭЖХ разделяются на два класса: универсальные и специфические. В первом случае регистрируется изменение какого-либо свойства подвижной фазы, например, показателя преломления или электропроводности с помощью соответственно рефрактометрического и кондуктометрического детекторов. Однако для химического мониторинга пестицидных остатков

преимущественно используют детекторы второй группы. Их действие основано на измерении определенного специфического свойства разделяемых веществ, в частности, светопоглощения в УФ-области, флуоресценции или силы тока при электрохимических процессах.

Спектрофотометрическое детектирование широко используют для анализа ароматических веществ, нитросоединений, а также молекул, содержащих систему сопряженных связей. Флуоресцентный детектор пригоден для определения тех органических соединений, которые легко испускают большую часть поглощенного электромагнитного излучения. С помощью амперометрического способа детектирования удобно определять с высокой чувствительностью органические вещества, способные окисляться или восстанавливаться при выбранном потенциале рабочего электрода, например, производные фенола.

В последние годы, благодаря успехам аналитического приборостроения, в химическом мониторинге пестицидов все шире используются хромато-масс-спектрометрические системы ВЭЖХ-МС различных конфигураций. В большинстве случаев их работа основана на одновременном удалении элюента при атмосферном давлении и ионизации нелетучих соединений, выходящих из хроматографической колонки, с помощью электрораспыления. Высокая селективность МС-детектирования позволяет снизить требования к качеству хроматографического разделения. Конкретный тип детектора и технические условия масс-спектрометрического анализа подбирают таким образом, чтобы обеспечить ионизацию аналита.

Основные закономерности выбора оптимальных условий хроматографического анализа пестицидов различных классов обобщены в приложении В.

5. Эффективность применения методических рекомендаций

Эффективность практического использования настоящих методических рекомендаций зависит от оснащенности испытательных лабораторий современным оборудованием и квалификации персонала. Использование последних достижений аналитического приборостроения и новых технологий химического анализа позволяет значительно сократить расход энергии и органических растворителей. Дополнительный экономический эффект, а также снижение роли человеческого

фактора, может быть достигнуто за счет автоматизации отдельных стадий процесса анализа при его оптимизации и дальнейшем использовании.

БИБЛИОГРАФИЯ

- [1] Philip W Lee. Handbook of residue analytical methods for agrochemicals. – USA: John Wiley & Sons Ltd, 2003. – P.29.
- [2] Ewell R., Harrison J.M., Berg L. Azeotropic Distillation // Industrial Engineering Chemistry. – 1944. – Vol. 36. – P. 841.
- [3] Пери С., Амос Р., Брюер П. Практическое руководство по жидкостной хроматографии. – М.: Мир, 1974. – С. 67-71.
- [4] Коренман И.М. Экстракция в анализе органических веществ. – М.: Химия, 1977. – С. 4-8.
- [5] Hill A.R.C., Harris C.A., Warburton A.G. Effects of sample processing in fruit and vegetables // Principles and Practices of Method Validation. – 1999. – P.41-48.
- [6] Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии. – М.: Мир, 1991. – С. 615-619.
- [7] M.D. Erickson, M.T. Giguere, D.A. Whitaker. Comparison of common solvent evaporation techniques in organic analysis // Anal Letters. – 1981. – Vol.14, N 11. – P. 841-857.
- [8] M. Anastassiades, S. Lehotay, D. Štajnbaher, F. Schenck. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/ partitioning and «dispersive solid-phase extraction» for determination of pesticide residues in produce // J. AOAC Int. – 2003. – Vol. 86, N. 2. – P. 412–431.
- [9] Садек П. Растворители для ВЭЖХ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. – С.16-19.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(рекомендуемое)

Получение производных, пригодных для анализа методом ГЖХ

Таблица А.1 – Получение производных, пригодных для анализа методом ГЖХ

№ п/п	Химическая реакция	Субстрат	Реагент	Производное
1	Силилирование	Спирты; карбоновые кислоты	N,O-бис(триметилсилил)-ацетамид	R-O-Si(CH ₃) ₃ R-COO-Si(CH ₃) ₃
		Тиолы; первичные амины; вторичные амины	N-метил-N-(триметилсилил)-трифторацетамид	R-S-Si(CH ₃) ₃ R-NH-Si(CH ₃) ₃ R-N-(Si(CH ₃) ₃) ₂ R=N-Si(CH ₃) ₃
2	Алкилирование	Спирты; карбоновые кислоты; тиолы; первичные амины	(CH ₃) ₂ CHBr, NaN	R-O-CH(CH ₃) ₂ R-COO-CH(CH ₃) ₂ R-S-CH(CH ₃) ₂ R-NH-CH(CH ₃) ₂
3	Этерификация	Карбоновые кислоты	CH ₂ N ₂ или CH ₃ OH	R-COO-CH ₃
4	Получение простых эфиров	Спирты	CH ₃ I	R-O-CH ₃
5	Ацилирование	Спирты; тиолы; первичные амины	(R'CO) ₂ O	R-O-COR' R-S-COR' R-NH-COR'
6	Получение оксимов и гидразинов	Альдегиды	NH ₂ OH, NH ₂ -NH ₂	R-CH=NOH R-CH=NH-NH ₂

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(рекомендуемое)
Определение пестицидов методом ГЖХ

Таблица Б.1 – Определение пестицидов методом ГЖХ

Химический класс пестицидов	Наиболее важные представители	Детектор	Предел обнаружения, мкг/л
Хлорсодержащие соединения: ДДТ и метаболиты Гексахлорциклогексаны Циклодиены Полициклодиены	Инсектициды: 2,4-ДДТ; 2,4-ДДЕ; 2,4-ДДД линдан, альдрин, диэльдрин токсафен перметрин	ЭЗД, МС	 2 2 3
Фосфорсодержащие соединения	Инсектициды: паратинон, диазинон, метаамидофос	ПВД, МС	1-10
Азотсодержащие соединения: Триазины Производные фенилмочевинны Карбаматы Прочие	Гербициды: атризин, симазин линурон, диурон, монурон карбарил, метиокарб, промекарб Гербициды, фунгициды: бентазон, метолахлор, метазахлор	ТИД, МС	 2 1-3 2
Оловоорганические соединения	Фунгицид: фентин	ПВД, МС	
Серосодержащие соединения	Гербицид: этофумесат	ПВД	

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(рекомендуемое)

Закономерности оптимизации подготовки проб

Таблица В.1 – Закономерности оптимизации подготовки проб

№ п/п	Физико-химические свойства и структурные особенности аналита	Объект исследования	Рекомендации выбора
1	Летучие термолабильные соединения	Вода Почва, растения	Жидкостная экстракция растворителем с низкой температурой кипения. Концентрирование экстракта в вакууме или в токе азота при комнатной температуре. Криогенное измельчение образцов.
2	Гидрофильные соединения с полярными функциональными группами	Вода Почва, растения	ТФЭ на патронах, заполненных сорбентом средней полярности; элюирование ацетонитрилом или метанолом. Жидкостная экстракция смесью ацетонитрила или метанола с водой.
3	Соединения с полярными функциональными группами и гидрофобными заместителями	Вода Почва, растения	ТФЭ на патронах, заполненных сорбентом с обращенной фазой; элюирование растворителем средней полярности, смешивающимся с водой. Жидкостная экстракция растворителем средней полярности; метод QuEChERS.
4	Соединения с кислотными свойствами	Вода Почва, растения	Жидкостная или твердофазная экстракция при рН, переводящим аналит в нейтральную форму. ТФЭ на патронах, заполненных сорбентом с ионообменными свойствами. Жидкостная экстракция при рН, переводящим аналит в нейтральную форму.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г
(рекомендуемое)

Закономерности выбора условий хроматографического анализа

Таблица Г.1 – Закономерности выбора условий хроматографического анализа

№ п/п	Физико-химические свойства и структурные особенности аналита	Рекомендации выбора			
		Вид хроматографии	Условия хроматографирования	Детектор *	Селективность детектора
1	2	3	4	5	6
1	Температура кипения < 400°C	ГЖХ	Определяется химическими свойствами		
2	Температура кипения ≥ 400°C	ВЭЖХ	Определяется химическими свойствами		
3	Летучие термолабильные соединения	ВЭЖХ	Определяется химическими свойствами		
4	Присутствие полярных функциональных групп	ГЖХ + дериватизация	Определяется природой производного	ПИД	Универсальный
		ВЭЖХ, прямой анализ	Обращенно-фазовая, ион-парная, ионная хроматография	УФ, ЭХД	Селективный Универсальный
5	Галогенсодержащие органические соединения	ГЖХ	Неполярная или среднеполярная неподвижная фаза	ЭЗД	Селективный
6	Азот- и фосфорорганические соединения	ГЖХ	Неполярная (основная) неподвижная фаза	ТИД	Селективный
		ВЭЖХ	Обращенно-фазовая хроматография	УФ	Селективный
7	Присутствие хромофоров	ВЭЖХ	Нормально-фазовая или обращенно-фазовая хроматография	УФ Флуориметр	Селективный
8	Присутствие донорно-акцепторных фрагментов	ГЖХ	Неполярная или среднеполярная неподвижная фаза	ПИД ЭЗД	Универсальный Селективный
		ВЭЖХ	Обращенно-фазовая хроматография	УФ	Селективный

Продолжение таблицы Г.1

1	2	3	4	5	6
9	Кислотно-основные свойства	ВЭЖХ	Ион-парная или ионная хроматография	УФ, Кондуктометрия	Селективный Универсальный
10	Окислительно-восстановительные свойства	ВЭЖХ	Обращенно-фазовая хроматография	УФ, амперометрия	Селективный
Примечание – * – Кроме указанных способов детектирования, во всех рассмотренных случаях можно использовать МС-детекторы					

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное медико-биологическое агентство
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

Система стандартизации в здравоохранении Российской Федерации

Группа 12. Требования к профилактике заболеваний, защите здоровья населения от повреждающих факторов, охране репродуктивного здоровья и оказанию медико-социальной помощи

Выбор оптимальной схемы анализа пестицидных остатков

Методические рекомендации

МР ФМБА России

Директор, д.м.н.



Е.Ю. Бонитенко

Ученый секретарь, к.б.н.

И.А. Шабунова

Главный метролог

И.В. Александрова

Исполнители:

Научный руководитель,
Заведующий лабораторией №10, к.х.н.

И.К. Журкович

Ответственный исполнитель,
младший научный сотрудник

В.В. Человечкова