

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**

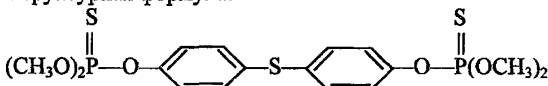
© Роспотребнадзор, 2010  
© Федеральный центр гигиены и  
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010

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



Эмпирическая формула – C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>P<sub>2</sub>S<sub>3</sub>.

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 рН 8 и температуре 20 °С не гидролизуеться 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. ЛД<sub>50</sub> 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 ЛД<sub>50</sub> 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**

Пластинки «Силуфол» производства ЧССР  
Центрифуга лабораторная стационарная ИЛС-3  
или аналогичная (объем стаканов 80—100 мл)  
Шкаф вытяжной  
Шкаф сушильный  
Аппарат для встряхивания АБУ-1 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 уксусноокислого свинца.  
20 г уксусноокислого свинца растворяют в 80 мл дистиллированной во-  
ды. При использовании основного уксусноокислого 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<sup>-1</sup>. 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 экстрагируют 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 серноокислого. Объединенные гексановые экстракты сушат над натрием серноокислым 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 диффоса 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 диффоса. 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. Диффос 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 диффоса 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