УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель Министра
здравоохранения Российской Федерации
Г.Г. Онищенко
2004 г.

МУК 4.1.1857-04
Дата введения с 1 июня 2004 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ЦИПЕРМЕТРИНА В СЕМЕНАХ И МАСЛЕ РАПСА, ПОДСОЛНЕЧНИКА И СОИ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

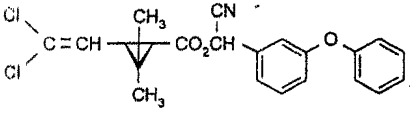
1. Вводная часть

Торговое наименование: Шарпей

Фирма призводитель: ЗАО «Фирма «Август»

Действующее вещество: циперметрин (смесь двух цис- и двух транс-изомеров)

Структурная формула:



RS-α циано-3-феноксибензил (IRS, 3RS, 1SR, 3SR)-3-(2,2-дихлорвинил)-2,2-метилциклопро-панкарбосилат.

Эмпирическая формула: $C_{22}H_{19}Cl_2N_1O_3$

Молекулярная масса: 416,3

Физическое состояние: вязкая желтая жидкость

Растворимость в воде: 0,004 мг/л

Растворимость в органических растворителях (г/л, 20°С): ацетон, хлороформ, циклогексанон, ксилол > 450, этанол – 337, гексан - 103

Стабильность: термически стабилен до 220 °С

Острая пероральная токсичность для крыс LD_{50} 250-4150 мг/кг; острая дермальная токсичность для крыс LD_{50} > 4920 мг/кг; острая ингаляционная токсичность для крыс LD_{50} 2,5 мг/л воздуха.

Гигиенические нормативы: рапс, подсолнечник – 0,1 мг/кг, соя – 0,01 мг/кг; масло рапса, сои - 0,1 мг/кг.

Область применения: контактно-кишечный инсектицид широкого спектра действия из группы синтетических пиретроидов.

gost.e-ecolog.ru

2. Методика определения циперметрина в семенах и масле рапса, подсолнечника и сои методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении циперметрина с помощью газожидкостной хроматографии при использовании электронно-захватного детектора после экстракции циперметрина органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением действующего вещества между несмешивающимися фазами, а также на колонке с флорисилом.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии других пестицидов, применяемых при возделывании зерновых и масличных культур.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1 и 2.

2.2. Реактивы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы и материалы

Циперметрин, аналитический (94,2 мас.%).
Ацетонитрил, осч, "Криохром", Санкт-Петербург.
Ацетон, осч., Криохром", Санкт-Петербург
Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.
н-Гексан, хч, ТУ 6-09-4521-77.
Натрия сульфат, хч, свежепрокаленный, ГОСТ 4166-76.
Натрия хлорид, хч, ГОСТ 4233-77.
Флорисил, «Sigma», 60-100 меш
Этилацетат, ГОСТ 22300-76.
Азот газообразный особой чистоты, ТУ-6-16-40-14-88.
Гелий газообразный особой чистоты,
Бумага фильтровальная, ТУ 6091678-86.
Вата, силанизированная, стеклянная, осч, Serva.

2.2.2. Приборы, аппаратура и посуда

Газовые хроматографы "HP 5890 series 2 plus" и «Кристалл 2000М» или аналогичный с электронно-захватным детектором.
Колонка капиллярная HP-1 30 м × 0.53 мм × 0.88 мкм или
ZB-1 30 м × 0.32 мм × 0.50 мкм.
Микрошприц МШ-10, ТУ-833-106 или аналогичный.
Алонж прямой с отводом для вакуума, шлиф 14/23 – 14/23, кат. №29300, фирма "БиоХимМак СТ".
Вакуумный роторный испаритель ИР-1М, ТУ 25-11-917-76 или аналогичный.
Весы аналитические ВЛР-200 или аналогичные, ГОСТ 19401-74.
Весы технические ВЛКТ-500 или аналогичные, ГОСТ 2404-80.
Водоструйный насос, ГОСТ 10696-75.
Воронки для фильтрования со стеклянным пористым фильтром, ГОСТ 25336-82.
Воронки делительные на 250 мл, ГОСТ 25336-82Е.
Встряхиватель механический, ТУ 64-1-1081-73.
Колбы конические, плоскодонные на 250 мл, ГОСТ 9737-70.
Колбы мерные на 50 и 100 мл, ГОСТ 1770-74.
Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 100, 250, 500 мл, КТУ-100-14119.
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; 5 мл, ГОСТ 20292-74.
Пробирки мерные с притертыми пробками, КШ 14/23, ГОСТ 1770-74.
Цилиндры мерные на 50, 100, 250 мл, ГОСТ 1770-74.

Таблица 1

Метрологические и статистические показатели (p=0,95, n = 20)

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение	Доверительный интервал среднего результата, ±%
Семена рапса	0,05	0,05-1,00	85,9	11,08	4,86
Семена подсолнечника	0,05	0,05-1,00	81,2	6,88	3,02
Семена сои	0,005	0,005-0,100	85,3	9,04	3,96
Масло рапса	0,05	0,05-1,00	84,0	12,21	5,35
Масло подсолнечника	0,05	0,05-1,00	87,6	9,60	4,21
Масло сои	0,05	0,05-1,00	93,9	11,46	5,02

Таблица 2

Полнота определения циперметрина
в семенах и масле рапса, подсолнечника и сои

Объект	Добавлено, мг/кг	Обнаружено, мг/кг	Доверительный интервал, ± (p=0,95, n = 5)	Полнота определения, %
Семена рапса	0,050	0,040	0,0028	80,4
	0,100	0,099	0,0107	99,0
	0,200	0,158	0,0071	78,8
	1,000	0,853	0,1613	85,3
Семена подсолнечника	0,050	0,044	0,0037	88,0
	0,100	0, 080	0,0049	80,2
	0,200	0,153	0,0118	76,6
	1,000	0,800	0,0839	80,0
Семена сои	0,005	0,004	0,0005	86,4
	0,010	0, 009	0,0004	90,0
	0,020	0,016	0,0028	80,0
	0,100	0,088	0,0121	87,6
Масло рапса	0,050	0,041	0,0032	82,0
	0,100	0,100	0,0138	100,0
	0,200	0,151	0,0164	75,5
	1,000	0,793	0,0733	79,3
Масло подсолнечника	0,050	0,047	0,0032	94,0
	0,100	0,080	0,0055	80,0
	0,200	0,188	0,0087	94,0
	1,000	0,833	0,1531	83,3
Масло сои	0,050	0,049	0,0013	98,0
	0,100	0,095	0,0113	95,2
	0,200	0,207	0,0291	102,0
	1,000	0,799	0,0293	79,9

2.3. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов (№ 2051-79 от 21.08.79 г.). Отобранные пробы семян подсушивают до стандартной влажности. Семена и масло хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в темноте при комнатной температуре.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Подготовка растворителей

Очистку растворителей осуществляют общепринятыми методами.

2.4.2. Приготовление стандартных растворов

Берут точную навеску циперметрина и растворяют в ацетоне таким образом, чтобы получить стандартный раствор с концентрацией 1 мг/мл. Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0-4°С в течение 6 месяцев. Из стандартного раствора методом последовательного разбавления по объему готовят рабочие стандартные растворы 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 10 мкг/мл в ацетоне для внесения в образцы семян и масла, и 0,25; 0,5; 1; 5 мкг/мл в гексане для оценки полноты извлечения циперметрина. Для построения калибровочного графика готовят растворы циперметрина в гексане концентрацией 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 мкг/мл. Эти стандартные растворы можно использовать в течение 7 дней при хранении в холодильнике.

2.4.3. Кондиционирование колонки хроматографа

Капиллярную колонку НР-1 или аналогичную ей устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и кондиционируют в токе гелия (20 мл/мин) при температуре 280°С в течение 6 часов.

2.4.4. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика снимают хроматограммы стандартных растворов, вводя в инжектор хроматографа последовательно 5 раз по 2 мкл растворов циперметрина в гексане концентрацией 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 мкг/мл. С помощью интегратора хроматографа вычисляют площади пиков всех изомеров циперметрина, рассчитывают среднее значение площади для каждой концентрации и строят график зависимости площади пиков от концентрации циперметрина.

2.4.5. Кондиционирование хроматографических колонок для очистки экстрактов образцов

Стеклянную колонку последовательно заполняют силанизированной стеклянной ватой, 10 г флорисила и 1,0 г сульфата натрия.

Колонку устанавливают на алонж с отводом для вакуума, промывают 20 мл смеси гексан-этилацетат (9:1) и 40 мл гексана. Промывку проводят под вакуумом непосредственно перед очисткой экстрактов образцов со скоростью 1 мл/мин, не допуская высыхания поверхности адсорбента. Элюат отбрасывают.

2.4.6. Проверка хроматографического поведения циперметрина на колонке с флорисилом

На кондиционированную колонку наносят 0,5 мкг циперметрина в 1 мл гексана. Колонку промывают 10 мл гексана, затем 15 мл смеси гексан-этилацетат (9:1) и элюат отбрасывают. Затем циперметрин элюируют последовательно десятью 2 мл порциями смеси гексан-этилацетат (9:1). Каждую фракцию упаривают отдельно, после чего сухой остаток растворяют в 1 мл гексана и аликвоту 2 мкл вводят в хроматограф.

Рассчитывают содержание циперметрина в каждой фракции и определяют объем элюента, необходимый для наиболее полного элюирования вещества с колонки. Для данной методики он равен 12 мл смеси гексан-этилацетат (9:1).

2.5. Описание методики

2.5.1. Семена рапса, подсолнечника и сои

Измельченную пробу семян массой 10 г помещают в коническую колбу (объемом 250 мл), добавляют 100 мл 80%-ного водного раствора ацетонитрила и встряхивают в течение 30 минут (для сои – 45 минут). Фильтруют через стеклянный пористый фильтр в концентратор (объемом 500 мл). К остатку в конической колбе приливают 50 мл 80% водного ацетонитрила и вновь встряхивают 30 минут. Фильтруют через тот же фильтр, перенеся все количество растительного материала на фильтр. Коническую колбу и осадок на фильтре ополаскивают два раза по 20 мл 80% водного ацетонитрила. Объединенный экстракт упаривают на роторном вакуумном испарителе при 40°С до водного остатка. Водный остаток переносят в делительную воронку (объемом 250 мл). Концентратор обмывают два раза 15 мл 10%-ного водного раствора хлорида натрия. Экстракцию циперметрина из водного раствора проводят гексаном последовательно двумя порциями по 30 мл и одной - 20 мл. После полного разделения фаз водный (нижний) слой сливают в тот же концентратор, а верхний собирают в концентратор (объемом 100 мл) через безводный сульфат натрия (5 г помещают в воронку со стеклянным пористым фильтром), который промывают 5 мл гексана. Объединенный гексановый экстракт упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при температуре 40°С. Сухой остаток растворяют в 4 мл гексана. Аликвоту объемом 2 мл наносят на одну кондиционированную колонку с флорисилом. Колонку промывают 10 мл гексана, затем 15 мл смеси гексан-этилацетат (9:1) и элюаты отбрасывают. Затем циперметрин элюируют 12 мл смеси гексан-этилацетат (9:1) со скоростью 1 мл/мин. Элюат упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при 40°С, растворяют в 2 мл гексана (или, в зависимости от содержания циперметрина, в другом объеме гексана) и 2 мкл вводят в хроматограф. Для образцов семян сои с низким содержанием циперметрина (< МДУ), проводят очистку каждой половины экстракта, объединяют их перед упариванием и затем растворяют в 1 мл гексана.

2.5.2. Масло рапса, подсолнечника и сои

Навеску масла массой 5 г помещают в делительную воронку объемом 250 мл и растворяют в 50 мл гексана. Затем приливают 50 мл ацетонитрила. Встряхивают в течение 2 мин. Ацетонитрильный экстракт (нижний слой) собирают через безводный сульфат натрия в концентратор (объемом 250 мл). Экстракцию ацетонитрилом повторяют дважды тем же количеством растворителя. Объединенный экстракт упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при 40°С.

Упаренную пробу растворяют в 4 мл гексана, разделяют ее после растворения пополам и наносят на подготовленную колонку с флорисилом. Промывают ее 10 мл гексана, затем 15 мл смеси гексан – этилацетат (9:1). Элюат отбрасывают. Циперметрин элюируют 12 мл смеси гексан – этилацетат (9:1) со скоростью 1 мл/мин. Элюат упаривают досуха на роторном вакуумном испарителе при 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл гексана (или, в зависимости от содержания циперметрина, в другом объеме гексана) и аликвоту 1 мкл хроматографируют.

2.6. Условия хроматографирования

Хроматограф "HP 5890 series II Plus" с электронно-захватным детектором (ЭЗД).

Капиллярная колонка – HP-1 30 м × 0,53 мм × 0,88 мкм. Расход газов: азот – 57,8 мл/мин; газ-носитель гелий – 2,5 мл/мин (30 psi). Режим без деления потока. Температурный режим: детектор – 320°С, инжектора – 270°С, термостат колонки – 260°С 16 мин, далее 60 °С/мин до 280°С, выдержка 19,67 мин. Объем вводимой пробы 1-2 мкл. Время удерживания трех пиков изомеров циперметрина: 13,25; 13.59; 13,95 мин (Cis-I, Trans-III, Cis-II+Trans-IV, соответственно). Линейный диапазон детектирования 0.025-0.5 нг. Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь суммы трех пиков.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь суммы трех пиков.

2.6.1. Возможность использования другого газового хроматографа и колонки

Удовлетворительные результаты также дает использование газового хроматографа «Кристалл 2000М» с электронно-захватным детектором (ЭЗД) и хроматографической капиллярной колонки ZB-1 30 м × 0,32 мм × 0,50 мкм при следующих условиях хроматографирования: Температурный режим: детектор – 320°С, инжектора – 270°С, термостат колонки – 260°С 16 мин, далее 60 °С/мин до 280°С, выдержка 19 мин; расход газа-носителя 1 – 2,96 мл/мин (скорость – 40 см/с), сброс газа 2 – 20 мл/мин. Объем вводимой пробы 2 мкл. Время удерживания трех пиков изомеров циперметрина: 13,50; 14.20; 14,47 мин (Cis-I, Trans-III, Cis-II+Trans-IV, соответственно). Линейный диапазон детектирования 0,05-0,5 нг.

2.7. Обработка результатов анализа

Содержание циперметрина рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$C = \frac{S_1 \cdot C_{cm} \cdot V}{S_{cm} \cdot m \cdot 100} \cdot P$$

C – содержание циперметрина в анализируемом объеме (мг/кг);

S_1 – сумма площадей пиков 4-х изомеров циперметрина анализируемого образца (отн. ед.);

S_{cm} – сумма площадей пиков 4-х изомеров циперметрина стандарта (отн. ед.);

C_{cm} – концентрация стандартного раствора циперметрина (мкг/мл);

V – объем экстракта (мл);

m – масса анализируемого образца (г);

P – содержание циперметрина 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

В.С. Горбатов, заведующий лабораторией, канд. биол. наук, А.М. Макеев, заведующий лабораторией, канд. биол. наук, Т.А. Бондарева, научн. сотр., С.И Решетников, ст. научн. сотр., канд. биол. наук.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии. 143050, Московская обл., Одинцовский р-н, п/о Б. Вяземы, ВНИИФ. Телефон: (233) 4-31-05, факс (233) 40902

Подписи В.С. Горбатова, А.М. Макеева, Т.А. Бондаревой, С.И. Решетникова заверяю.

Зав. канцелярией ВНИИФ:

gost.e-ecolog.ru