УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы по надзору

в сфере защиты прав потребителей и

благополучия человека

Главный государственный санитарный врач

Российской Федерации

_____ Г.Г.ОНИЩЕНКО

МУК 4.1 3026-05

«17» декабря 2005 г.

Дата введения: с момента утверждения

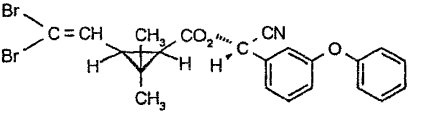
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДЕЛЬТАМЕТРИНА В КУКУРУЗНОМ МАСЛЕ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Настоящие методические указания устанавливают метод газожидкостной хроматографии для определения массовой концентрации дельтаметрина в кукурузном масле в диапазоне 0,01-0,1 мг/кг.

Дельтаметрин – действующее вещество инсектицидов Децис, КЭ (25 г/л), Децис Экстра, КЭ (125 г/л) и Децис Профи, ВДГ (250 г/кг), фирма производитель Байер Кроп Сайенс (Германия)

(S) -α -циано-3-феноксибензил (1 R, 3 R)-3-(2,2-дибромвинил)- 2,2-диметилциклопропанкарбоксилат (ИЮПАК)

[1 R-[1-α (S*),3-α]]-циано(3феноксифенил)метил 3-(2,2дибромэтенил)- 2,2-диметилциклопропанкарбоксилат (С.А.)



$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$

Мол. масса: 505,2

gost.e-ecolog.ru

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления: 100 - 102°С. Давление паров при 25°С: 1,24 х 10^{-5} мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 4,6. Растворимость (г/дм^3) при 20°С: диоксан – 900, циклогексан – 750, дихлорметан – 700, ацетон - 500, этанол - 15, вода (при 25°С) < 0,2 мкг/дм^3.

Стабильно при хранении на воздухе. Более стабильно в кислой, чем в щелочной среде (DT_{50} = 2,5 дня при pH 9)

В биологически активных почвах в аэробных условиях дельтаметрин подвергается микробиологическому разложению в течение 1 – 2 недель,

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс - 128 - 138 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - более 2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - 2,2 мг/дм^3 воздуха.

Дельтаметрин вызывает умеренное раздражение глаз кролика и не влияет на кожу. Вещество токсично для рыб (LC_{50} = 0,9 – 1,4 мкг/дм^3) и пчёл (LD_{50} = 50 – 80 нг/особь).

Рекомендуемый норматив для дельтаметрина в кукурузном масле – 0,02 мг/кг.

Область применения препарата

Дельтаметрин – инсектицид контактного и кишечного действия из группы синтетических пиретроидов. Он эффективно подавляет развитие вредителей из отрядов жёсткокрылых, перепончатокрылых, прямокрылых, двукрылых и чешуекрылых (имаго и личинки) в посевах зерновых и овощных культур, кукурузы, хлопчатника, на плантациях картофеля, технических и плодовых культур при норме расхода 5 – 25 г д.в./га.

Зарегистрирован в России под торговыми названиями Децис, КЭ (25 г/л), Децис Экстра, КЭ (125 г/л) и Децис Профи, ВДГ (250 г/кг) в качестве инсектицида для применения в посевах пшеницы, ячменя, кукурузы, пастбищных трав, в посадках капусты и картофеля, на плодовых культурах путём опрыскивания вегетирующих растений.

1. Метрологические характеристики метода

Метрологические характеристики метода представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 20					
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S, %	Относительное отклонение DS, %	Доверительный интервал среднего, %
Масло	0,01	0,01 - 0,1	83,8	4,2	1,9	± 3,9

Таблица 2

Полнота определения дельтаметрина в модельной матрице (n = 5)

Матрица	Внесено дельтаметрина, мг/кг	Открыто дельтаметрина, %	Доверительный интервал среднего, %
Масло	0,01	79,3	±3,8
	0,02	83,5	±3,1
	0,05	85,4	±2,5
	0,10	87,0	±2,9

2. Методы измерений

Методика основана на определении вещества с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с электронозахватным детектором (ЭЗД). Контроль дельтаметрина в матрице осуществляется по содержанию вещества после экстракции его из масла водным ацетонитрилом, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем и концентрирующем патроне Диапак-диол.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Газовый хроматограф «Кристалл 2000М» с ЭЗД (СКБ «Хроматэк», Россия)	Номер Госреестра № 14516-95
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,036 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2	ГОСТ 1770
Меры массы	ГОСТ 7328
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0; 2,0; 5,0; 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой вместимостью 5 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Дельтаметрин, аналитический стандарт фирмы Байер (Германия) с содержанием д.в. 99,6%

Ацетон, чда	ГОСТ 2603-79
Ацетонитрил, ч	ТУ 6-09-3534-82
Вода бидистиллированная	ГОСТ 6702
н-Гексан,	ТУ 6-09-3375
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Азот газообразный (баллон), осч.	ГОСТ 9293
Аппарат для встряхивания типа АВУ	ТУ 64-1-1081
Ванна ультразвуковая, модель D-50, фирма Branson Instr. Co. (США)	
Воронки делительные вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336
Дефлегматор елочный	ГОСТ 9737

Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$ ГОСТ 9737

Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 25 и 150 $см^3$ ГОСТ 9737

Колонка хроматографическая стеклянная, длиной 25 см ГОСТ 9737

Концентрирующий патрон Диапак-диол (ЗАО БиоХимМак, РФ)

Силикагель (0,063-0,2 мм) для адсорбционной хроматографии (Мерк, Германия) I степени активности

Стекловата

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ТУ 25-11-917 ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi (Швейцария)

Установка для перегонки растворителей

Колонка хроматографическая, стеклянная, длиной 1 м, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Хромосорб W/HP (0,12-0,15 мм) с 3% SE-30

Колонка капиллярная кварцевая, ZB-1, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщина пленки 0,5 мкм, неподвижная фаза SE-30, фирма Phenomenex (США) или аналогичная

Центрифуга Т-23 (Janetzki, Германия) или аналогичная

Шприц для ввода образцов в газовый хроматограф ТУ 64-1-2850 вместимостью 10 $мм^3$

Допускается применение другого оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313- 03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя с опытом работы на газовом хроматографе.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20+5)^0$С и относительной влажности не более 80%.
- выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики, подготовка колонки с силикагелем и концентрирующих патронов Диапак-диол.

7.1. Очистка органических растворителей

7.1.1. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения ее окрашивания в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.1.2. Очистка этилацетата

Этилацетат промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют.

7.2. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8-10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 5 г силикагеля в 20 $см^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 15 $см^3$ гексана со скоростью 1-2 капли в сек., после чего она готова к работе.

7.3. Проверка хроматографического поведения дельтаметрина на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ помещают 1 $см^3$ градуировочного раствора № 1 дельтаметрина с концентрацией 1 мкг/$см^3$ в гексане (п. 7.6.2), отдувают растворитель током азота, остаток растворяют в 3 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п.7.2. Промывают колонку 50 $см^3$ гексана со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Затем колонку промывают 50 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему). Фракционно (по 5 $см^3$) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 2 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание дельтаметрина по п.9.5.

7.4. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-диол

Концентрирующий патрон промывают последовательно с помощью медицинского шприца 20 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему) и 10 $см^3$ гексана со скоростью 5 $см^3$/мин.

7.5. Подготока и кондиционирование хроматографической колонки

Засыпают готовую насадку (3% SE-30 на Хромосорбе W/HP) в стеклянную колонку и уплотняют под вакуумом. Колонку устанавливают в термостат хроматографа и, не подсоединяя к детектору, кондиционируют при температуре 270^{0}С и скорости газа-носителя 2,5 $см^3$/мин в течение 8-10 часов.

7.6. Приготовление градуировочных растворов

7.6.1. Исходный раствор дельтаметрина для градуировки (концентрация 100 мкг/$см^3$). В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 0,010 г дельтаметрина, растворяют в 40-50 $см^3$ гексана, доводят гексаном до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше –18^{0}С в течение 3-х месяцев.

7.6.2. Раствор дельтаметрина №1 для градуировки (концентрация 1 мкг/$см^3$).

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ исходного раствора дельтаметрина с концентрацией 100 мкг/$см^3$ (п.7.6.1.), разбавляют гексаном до метки. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов №№ 2-5, а также проб масла с внесением при оценке полноты извлечения дельтаметрина из исследуемых образцов.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше -18^0С в течение месяца.

7.6.3. Рабочие растворы №№ 2-5 дельтаметрина для градуировки (концентрация 0,01-0,1 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 градуировочного раствора № 1 дельтаметрина с концентрацией 1 мкг/см^3 (п.7.6.2), доводят до метки гексаном, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2-5 с концентрацией дельтаметрина 0.01, 0.02, 0.05 и 0.10 мкг/см^3, соответственно.

Растворы готовят непосредственно перед использованием.

7.7. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мВ*с) от концентрации дельтаметрина в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки.

В инжектор хроматографа вводят по 2 мм^3 каждого градуировочного раствора (п.7.6.3) и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

8. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными ГОСТом 10852-86 «Семена масличные. Правила приемки и методы отбора проб». Масло хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре 4-6^{0}С. В некоторых случаях масло получают из зерна кукурузы экстракцией органическими неполярными растворителями (петролейный и диэтиловый эфиры) непосредственно перед проведением анализа.

9. Выполнение определения

9.1. Экстракция дельтаметрина

Образец масла массой 5 г помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 100 см^3 смеси ацетонитрил-вода (80:20, по объему) и помещают на встряхиватель на 30 мин. Эмульсию центрифугируют 5 мин при 6000 g и отделяют водно-ацетонитрильную фазу. Операцию экстракции масляной фазы повторяют, используя 50 см^3 смеси ацетонитрил-вода (80:20, по объему), и отделяют водно-ацетонитрильную фазу центрифугированием. Измеряют объем объединенной водно-ацетонитрильной фазы, отбирают 2/5 объема этой фазы (эквивалентна 2 г образца) и переносят в делительную воронку вместимостью 100 см^3.

9.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей

К экстракту, полученному по п.9.1. и помещенному в делительную воронку, прибавляют 15 $см^3$ гексана и воронку интенсивно встряхивают в течение 2-х мин. После разделения фаз нижний водно-ацетонитрильный слой переносят в круглодонную колбу и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка (7-10 $см^3$) при температуре 40^0С. К водному остатку прибавляют 10 $см^3$ ацетона, перемешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$. В воронку вносят 30 $см^3$ гексана, интенсивно встряхивают воронку в течение 2-х мин. После разделения фаз верхний гексановый слой отделяют, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажный фильтр в конусной воронке, в круглодонную колбу вместимостью 150 $см^3$. Операцию экстракции водной фазы повторяют еще дважды, используя 30 и 20 $см^3$ гексана. Объединенную гексановую фазу, пропущенную через слой сульфата натрия, упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30^0С.

9.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п.9.2., растворяют в 3 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин. Раствор наносят на колонку, подготовленную по п. 7.2. Колбу обмывают трижды порциями по 3 $см^3$ гексана, которые также наносят на колонку. Промывают колонку 40 $см^3$ гексана со скоростью 1-2 капли в сек., элюат отбрасывают. Дельтаметрин элюируют 40 $см^3$ смеси гексан-этилацетат (9:1, по объему) в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40^0С.

9.4. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак – диол

Сухой остаток в круглодонной колбе, полученный по п.9.3., растворяют при помощи ультразвуковой ванны в 2 $см^3$ гексана и раствор переносят в подготовленный концентрирующий патрон (п. 7.4.). Дельтаметрин элюируют 7 $см^3$ гексана, отбрасывая 1 $см^3$ и собирая последующие 6 $см^3$ элюата в круглодонную колбу вместимостью 25 $см^3$. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30^0С. Остаток в колбе растворяют в 2 $см^3$ гексана, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и анализируют на содержание дельтаметрина по п. 9.5.

9.5. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф "Кристалл 2000 М" с электронозахватным детектором с пределом детектирования по линдану не выше $8,2x10^{-15}$ г/см^3

Колонка хроматографическая, стеклянная, 1000х2 мм, неподвижная фаза - 3% SE-30 на Хромосорбе W/HP (0,12 – 0,15 мм)

Температура испарителя - 270°С, термостата колонки - 240°С, детектора -320°С

Скорость потока газа-носителя (азот) - 50 см^3/мин

Объем вводимой пробы - 2 мм^3

Ориентировочное время выхода дельтаметрина: 2,7 – 2,8 мин.

Линейный диапазон детектирования: 0,02 - 0,2 нг

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,1 мкг/см^3, разбавляют гексаном.

10. Обработка результатов анализа

Содержание дельтаметрина рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}, \text{ где}$$

X - содержание дельтаметрина в пробе, мг/кг;

H_1 - площадь пика образца, мВ*с;

H_0 - площадь пика стандарта, мВ*с;

A - концентрация стандартного раствора дельтаметрина, мкг/см^3;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m - масса анализируемой части образца (г) / для масла - 2 г/.

11. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-1-6.2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

12. Разработчики

Талалакина Т.Н., науч. сотр.; Дубовая Л.В., науч. сотр.; Макеев А.М., зав. лаб., канд. биол. наук

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы 592-92-20

Подпись руки Талалакиной Т.Н., Дубовой Л.В. и Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ (Банюлис Г.Г.)

gost.e-ecolog.ru