УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач

Российской Федерации

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере

защиты прав потребителей и благополучия человека

Г.Г.ОНИЩЕНКО

18 апреля 2005 г.

МУК 4.1. 15 43 - 05

Дата введения: 18.04.05

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДЕЛЬТАМЕТРИНА В ЗЕЛЁНОЙ МАССЕ, СЕМЕНАХ И МАСЛЕ РАПСА ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

1. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

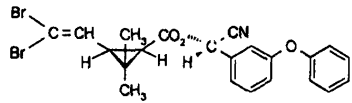
Фирма производитель: Байер Кроп Сайенс (Германия)

Торговое название: ДЕЦИС

Действующее вещество: дельтаметрин

(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.)



Эмпирическая формула: $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$

Молекулярная масса: 505,2

Бесцветное кристаллическое вещество

Температура плавления: 100 - 102°С

gost.e-ecolog.ru

Давление паров при 25°С: 1,24 х 10^{-5} мПа

Коэффициент распределения н-октанол/вода:K_{OW} log P = 4,6

Растворимость (г/л) при20°С: диоксан – 900, циклогексан – 750, дихлорметан – 700, ацетон - 500, этанол - 15, вода (при 25°С) < 0,2 мкг/л.

Стабильно при хранении на воздухе. Более стабильно в кислой, чем в щелочной среде (DT_{50} = 2,5 дня при pH9)

В биологически активных почвах в аэробных условиях дельтаметрин подвергается микробиологичеокому 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/л воздуха.

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

Гигиенические нормативы для дельтаметрина в России: : ПДК в почве - 0,01 мг/кг; ПДК в воде водоемов - 0,006 мг/$дм^3$; МДУ в подсолнечнике (семена), дыне, табаке – 0,1; подсолнечнике (масло), персиках, бананах – 0,05; зерне хлебных злаков, зернобобовых, яблоках, грушах, капусте, кукурузе, огурцах, салате, рисе, цитрусовых (мякоть) – 0,01; винограде, картофеле, свекле сахарной, томатах, арбузе, сое (масло), перцах, какао бобах – 0,01 (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. Препараты проходят регистрационные испытания в посевах рапса.

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДЕЛЬТАМЕТРИНА В ЗЕЛЁНОЙ МАССЕ, СЕМЕНАХ И МАСЛЕ РАПСА ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

2.1 Основные положения

2.1.1 Принцип метода

Метод основан на газохроматографическом определении дельтаметрина с ЭЗД на неподвижной фазе SE-30 после экстракции его из зелёной массы рапса водным ацетоном, из семян ацетонитрилом, а 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.

2.1.2 Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в интенсивной технологии выращивания рапса.

2.1.3 Метрологическая характеристика метода

Таблица

Метрологическая характеристика метода

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, %
Зелёная масса	0,01	0,01 - 0,1	83,9	3,5	1,6	±3,3
Семена	0,01	0,01 - 0,1	83,4	4,3	1,9	±4,0
Масло	0,01	0,01 - 0,1	81,8	3,0	1,3	±2,8

2.2 Реактивы, растворители и материалы

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

Ацетон, чда, ГОСТ 2603-79

Ацетонитрил, ч., ТУ 6-09-3534-82

Вода бидистиллированная, ГОСТ 7602-72

Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75

Кальция хлорид, хч., ГОСТ 4161-77

Калий углекислый, хч., ГОСТ 4221-76

Кислота серная, хч., ГОСТ 4204-77

Натрий двууглекислый, ГОСТ 83-79

Натрия гидроксид, хч., ГОСТ 4328-77

Натрия сульфат безводный, хч., ГОСТ 4166-76

Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69

Этилацетат, ГОСТ 22300-76

Элюент для колоночной хроматографии: смесь гексан– этилацетат (9:1, по объему)

Силикагель для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) I степени активности или силикагель КСК (60-100 меш)

Концентрирующий патрон Диапак-диол (ЗАО БиоХимМак, РФ)

Азот газообразный, осч, ГОСТ 9293-74

Стекловата

Фильтры бумажные, синяя лента, ТУ 6-09-1678

Целит 535 (2-15 мкм) /Серва, Германия/ или аналогичный

2.3 Приборы, аппаратура, посуда

Хроматограф газовый «Кристалл 2000М» с ЭЗД или другой аналогичного типа

Колонка хроматографическая, стеклянная, 1000х3 мм, неподвижная фаза - 3% SE-30 на Хромосорбе W/HP (0,12 – 0,15 мм)

Колонка капиллярная кварцевая ZB-1, длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина плёнки 0,5 мкм, неподвижная фаза SE-30, фирма Phenomenex (США) или аналогичная

Микрошприц ёмкостью 10 мкл МШ-10Ф по ТУ 64-1-2850

Аппарат для встряхивания АВУ, ТУ 64-1-1081-83

Весы аналитические типа ВЛР-200, ГОСТ 19401-74

Водоструйный насос, ГОСТ 10696-75

Мельница электрическая лабораторная, ТУ 46-22-236-79 или аналогичная

Прибор для перегонки при атмосферном давлении

Ротационный испаритель тип ИР-1М, ТУ 25-11-917-76

Баня водяная, ТУ 46-22-603-75

Воронка Бюхнера, ГОСТ 0147-73

Воронки делительные вместимостью 100 и 250 мл, ГОСТ 25336-82

Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75

Колба Бунзена, ГОСТ 5614-75

Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 и 250, мл, ГОСТ 9737-70

Колбы конические с притертыми пробками вместимостью 250 мл, ГОСТ 25336-82

Колбы мерные вместимостью 50, 100 мл, ГОСТ 1770-74

Колбы грушевидные вместимостью 50 и 100 мл, ГОСТ 25336-82

Пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл, ГОСТ 20292-74Е

Пробирки градуированные с притертыми пробками вместимостью 5 и 10 мл, ГОСТ 10515-75

Цилиндры мерные вместимостью 50, 100, 250 и 500 мл, ГОСТ 1770-74

2.4 Отбор проб

Отбор проб производится соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (N 2051-79 от 21.08.79 г.).

Отобранные пробы зелёной массы хранят в стеклянной таре в холодильнике не более суток. Для длительного хранения пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре -18^{0}С до анализа. Семена и масло рапса хранят в стеклянной таре в холодильнике. Перед анализом семена размалывают на лабораторной мельнице, а зелёную массу измельчают.

2.5 Подготовка к определению

2.5.1 Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с типовыми методиками. Гексан встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока свежая порция кислоты не перестанет окрашиваться. Затем гексан последовательно промывают водой, 2%-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют.

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

Ацетонитрил сушат над пентоксидом фосфора и перегоняют; отогнанный растворитель повторно перегоняют над углекислым калием.

Этилацетат промывают равным объемом 5%-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.2 Подготовка и кондиционирование колонки

Готовую насадку (3% SE-30 на Хромосорбе W/HP) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 270°С в течение 8-10 часов.

2.5.3 Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор дельтаметрина с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 99,6%д.в., в гексане в мерной колбе ёмкостью 100 мл. Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,01 , 0,02 , 0,05 и 0,1 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора дельтаметрина соответствующим последовательным разбавлением гексаном. Все растворы хранят в холодильнике не более одного месяца.

2.5.4 Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 2 мкл рабочего стандартного раствора дельтаметрина с концентрацией 0,01 , 0,02 , 0,05 и 0,1 мкг/мл. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. Строят

калибровочный график зависимости площади хроматографического пика в S мВ*с от концентрации дельтаметрина в растворе в мкг/мл.

2.5.5 Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак – диол для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1,8 см вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и приливают около 10 мл гексана. Затем в колонку вносят суспензию 5 г силикагеля в 20 мл гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 30 мл смеси гексан - этилацетат (9:1, по объему) и 20 мл гексана со скоростью 1-2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

Концентрирующий патрон Диапак – диол промывают последовательно с помощью медицинского шприца 20 мл смеси гексан – этилацетат (9:1, по объёму) и 10 мл гексана со скоростью 5 мл/мин.

2.5.6 Проверка хроматографического поведения дельтаметрина на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора дельтаметрина с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 3 мл гексана и наносят на колонку Промывают колонку 50 мл гексана, затем 30 мл смеси гексан-этилацетат, 9:1 со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 5 мл каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют на содержание дельтаметрина по п. 2.7.1.

Фракции, содержащие дельтаметрин, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 4 мл гексана и вновь анализируют по п. 2.7.1. Рассчитывают содержание дельтаметрина в элюате, определяют полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для очистки экстракта объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Профиль вымывания дельтаметрина может меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.5.7 Проверка хроматографического поведения дельтаметрина на концентрирующем патроне Диапак – диол

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора дельтаметрина с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 мл гексана и наносят на патрон. Промывают патрон 7

гексана, собирают фракции по 1 мл и анализируют на содержание дельтаметрина по п. 2.7.1.

Фракции, содержащие дельтаметрин, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 4 мл гексана и вновь анализируют по п. 2.7.1. Рассчитывают содержание дельтаметрина в элюате, определяют полноту вымывания вещества из патрона и необходимый для очистки экстракта объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Профиль вымывания дельтаметрина может меняться при использовании новой партии концентрирующих патронов Диапак – диол и растворителей.

2.6 Описание определения

2.6.1 Экстракция дельтаметрина

2.6.1.1 Зелёная масса. К навеске (10 г) измельчённого растительного материала добавляют 100 мл 70%-ного водного ацетона и перемешивают в течение 1 часа на аппарате для встряхивания. Добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу ёмкостью 250 мл. Растительный материал повторно экстрагируют 50 мл 70%-ного водного ацетона при встряхивании в течение 20 мин и фильтруют. Из объединенного водно-ацетонового экстракта отбирают аликвоту раствора, эквивалентную 5 г растительного материала. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп.2.6.2.1 и 2.6.3.

2.6.1.2 Семена. К навеске (10 г) размолотых семян приливают 50 мл ацетонитрила, суспензию перемешивают в течение 40 минут на аппарате для встряхивания и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу ёмкостью 250 мл. Растительный остаток повторно экстрагируют 30 мл ацетонитрила при встряхивании в течение 20 минут и суспензию фильтруют. Из объединенного ацетонитрильного экстракта отбирают аликвоту раствора, эквивалентную 2 г семян. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 2.6.2.2, 2.6.3 и 2.6.4.

2.6.1.3 Масло. Навеску (2 г) масла помещают в коническую колбу емкостью 100 мл, приливают 50 мл 80%-ного водного ацетонитрила и эмульсию энергично перемешивают в течение 1 часа на аппарате для встряхивания. Эмульсию центрифугируют 5 мин при 6000 g и отделяют водно-ацетонитрильную фазу. Масло повторно экстрагируют 20 мл 80%-ного водного ацетонитрила и отделяют водно-

ацетонитрильную фазу центрифугированием. Объединенный ацетонитрильный экстракт подвергают дальнейшей очистке по пп. 2.6.2.3, 2.6.3 и 2.6.4.

2.6.2 Очистка переэкстракцией

2.6.2.1 Зелёная масса. Аликвоту водно-ацетонового экстракта из п. 2.6.1.1 переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл, приливают 30 мл гексана и смесь встряхивают в течение 1 мин. Собирают гексановую фракцию. Экстракцию гексаном повторяют ещё два раза (по 30 мл). Объединённый гексановый экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40°С.

2.6.2.2 Семена Объём аликвоты экстракта из п.2.6.1.2 доводят ацетонитрилом до 30 мл. Раствор переносят в делительную воронку ёмкостью 100 мл, приливают 10 мл гексана и содержимое встряхивают в течение 1 минуты. После разделения слоёв гексановую фазу отбрасывают., а ацетонитрильную фазу фильтруют через бумажный фильтр и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40°С.

2.6.2.3 Масло. Водно-ацетонитрильный экстракт из п.2.6.1.3 упаривают до водного остатка и переносят последний в делительную воронку ёмкостью 100 мл. Приливают 20 мл гексана и смесь встряхивают в течение 1 минуты. После её расслоения гексановый слой отбрасывают, к водной фазе добавляют 10 мл ацетона и дельтаметрин экстрагируют гексаном при встряхивании трижды (30 + 30 + 20 мл). Объединённый гексановый экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40°С.

2.6.3 Очистка на колонке с силикагелем

Сухой остаток зелёной массы, семян или масла (из пп. 2.6.2.1 – 2.6.2.3) количественно переносят тремя 1-мл порциями гексана в подготовленную хроматографическую колонку (п. 2.5.5). Промывают колонку 50 мл гексана, которые отбрасывают. Дельтаметрин элюируют 30 мл смеси гексан-этилацетат (9:1, по объму) в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40°С. Сухой остаток экстракта зелёной массы растворяют в 5 мл гексана и анализируют по п. 2.7.1.

Экстракты семян и масла подвергают дополнительной очистке на концентрирующем патроне Диапак –диол.

2.6.4 Очистка на концентрирующем патроне Диапак – диол

Сухой остаток экстракта семян или масла из п.2.6.3 переносят двумя 1-мл порциями гексана в подготовленный концентрирующий патрон (п. 2.5.5). Дельтаметрин элюируют 7 мл гексана, отбрасывая 1 мл и собирая последующие 6 мл в грушевидную колбу ёмкостью 10 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют по п. 2.7.1.

2.7 Условия хроматографирования

2.7.1. Метод ГЖХ с насадочной колонкой

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

Колонка хроматографическая, стеклянная, 1000х3 мм, неподвижная фаза - 3% SE-30 на Хромосорбе W/HP (0,12 – 0,15 мм)

Температура испарителя - 270°С, термостата колонки - 245°С, детектора -330°С

Скорость потока газа-носителя (азот) - 50 мл/мин

Объем вводимой пробы - 2 мкл

Время удерживания дельтаметрина - 3 мин..

Предел детектирования - 0,02 нг

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/мл, разбавляют гексаном.

2.7.2. Метод ГЖХ с капиллярными колонками

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

Колонка капиллярная кварцевая ZB-1, 30 м х 0,32 мм х 0,5 мкм

Температура испарителя - 270°С, термостата колонки - 265°С, детектора -320°С

Газовый режим: газ-носитель – азот, расход – 3,0 мл/мин; газ для поддува в детектор - азот, расход – 20 мл/мин

Деление потока: 1:3,3

Объем вводимой пробы - 1 мкл

Время удерживания дельтаметрина – 14,24 мин..

Предел детектирования - 0,02 нг

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

2.8 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/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m - масса анализируемой части образца (г) /для зелёной массы - 5 г, для семян и масла - 2 г/.

3. ТРЕБОВАНИЯ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами.

4. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335-95. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа.

5. РАЗРАБОТЧИКИ

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

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы,

тел. 592-92-20

Подпись руки Дубовой Л.В. и Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ (Банюлис Г.Г.)

gost.e-ecolog.ru