

**4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Определение остаточных количеств пестицидов  
в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье  
и объектах окружающей среды**

**Сборник методических указаний  
МУК 4.1.1802—4.1.1820—03;  
4.1.1822—4.1.1826—03**

**Выпуск 5**

**Издание официальное**

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Главный Государственный санитарный врач РФ,  
Первый зам. Министра здравоохранения РФ

Г.Г. Онищенко

«16 окт 2003 г.

МУК 4.1. 1809-03

Дата введения: с 1 апреля 2004 г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ  
ЭСФЕНВАЛЕРАТА В СЕМЕНАХ И МАСЛЕ ПОДСОЛНЕЧНИКА И СОИ  
МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.**

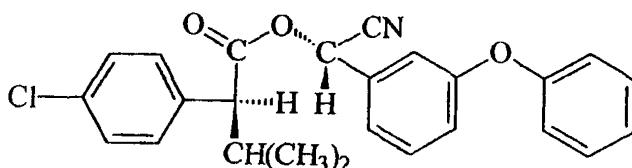
**1. Вводная часть.**

Фирма производитель: Август

Торговое наименование: Сэмпай

Действующее вещество: эсфенвалерат (ISO).

Структурная формула:

(S)- $\alpha$ -циано-3-феноксибензил-(S)-2-(4-хлорфенил)-3-метилбутират (IUPAC).Брутто формула: C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>3</sub>

Мол. масса: 419.9.

Химически чистый препарат - бесцветное кристаллическое вещество (до 23°C).

Температура плавления: 59.0-60.2°C

Давление паров при 25°C – 2x10<sup>-4</sup> mPaКоэффициент распределения n-октанол/вода: K<sub>ow</sub> log P = 6.22 (25°C)

Растворимость: в воде при 25°C – 0.002 мг/л;

в n-гексане – 10-50, метаноле – 70-100,

в ксилоле, ацетоне, хлороформе, этилацетате, DMSO, DMFA – &gt; 600 (в г/кг при 25°C).

Вещество относительно стабильно на свету, стабильно к гидролизу при pH 5.7 и 9 (25°C).

**Класс токсичности по ВОЗ – II, ЕПА – II.**

**Острая пероральная токсичность ( $LD_{50}$ ) для крыс 75-88 мг/кг.**

**В России гигиенические нормативы для сои и подсолнечника не установлены.**

**Область применения: инсектицид широкого спектра действия (группа пиретроидов), применяется на зерновых, плодовых, горохе и др.**

## **2. Методика определения эсфенвалерата в семенах и масле подсолнечника и сои методом газожидкостной хроматографии**

### **2.1. Основные положения**

#### **2.1.1. Принцип метода**

Методика основана на извлечении эсфенвалерата из семян и масла подсолнечника и сои водно-ацетоновым раствором или ацетонитрилом с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися жидкостями и на колонке с фторисилом. Количество определение проводят методом газожидкостной хроматографии с использованием электронозахватного детектора.

#### **2.1.2. Избирательность метода**

Избирательность метода обеспечивается очисткой экстрактов анализируемых проб и сочетанием условий хроматографирования. Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

#### **2.1.3. Метрологическая характеристика метода**

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах I и 2.

**Таблица 1**

**Метрологическая характеристика метода**

Объект анализа	Предел обнаружения мг/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Среднее значение определения, % (для каждого объекта n=24)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, n=24, P=0.95
Семена сои	0,01	0,01 – 0,1	79,5	4,4	4,6
Семена подсолнечника	0,01	0,01 – 0,1	77,2	5,3	5,9
Масло сои	0,02	0,02 – 0,2	77,4	4,9	5,6
Масло подсолнечника	0,02	0,02 – 0,2	78,2	5,3	5,8

Таблица 2

**Полнота определения эсфенвалерата в семенах и масле подсолнечника и сои  
(N=5 для каждой концентрации)**

Среда	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, $S$ , мг/кг	Доверительный интервал, (P=0.95, n=6), %	Полнота определения, %
<b>Семена сои</b>	0,01	0,0078	$8,3 \cdot 10^{-4}$	4,01	78,3
	0,02	0,0160	$1,7 \cdot 10^{-3}$	5,25	80,0
	0,05	0,043	$3,8 \cdot 10^{-3}$	4,10	80,6
	0,1	0,079	$6,3 \cdot 10^{-3}$	5,11	79,0
<b>Среднее</b>					79,5
<b>Семена подсолнечника</b>	0,01	0,0075	$8,1 \cdot 10^{-4}$	5,07	75,0
	0,02	0,0152	$2,2 \cdot 10^{-3}$	5,12	76,0
	0,05	0,038	$3,5 \cdot 10^{-3}$	6,06	77,4
	0,1	0,080	$6,6 \cdot 10^{-3}$	4,81	80,2
<b>Среднее</b>					77,2
<b>Масло сои</b>	0,02	0,0160	$1,2 \cdot 10^{-3}$	4,71	80,0
	0,05	0,038	$3,4 \cdot 10^{-3}$	5,68	75,8
	0,1	0,077	$7,3 \cdot 10^{-3}$	4,21	76,6
	0,2	0,155	$4,1 \cdot 10^{-2}$	5,10	77,4
<b>Среднее</b>					77,4
<b>Масло подсолнечника</b>	0,02	0,0160	$2,9 \cdot 10^{-3}$	5,11	80,0
	0,05	0,038	$4,0 \cdot 10^{-3}$	4,92	75,8
	0,1	0,079	$7,1 \cdot 10^{-3}$	5,04	79,0
	0,2	0,156	$3,8 \cdot 10^{-2}$	6,02	78,2
<b>Среднее</b>					78,2

## 2.2. Реактивы и материалы.

Аналитический стандарт эсфенвалерата 99,8%

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, х.ч., ТУ 6-09-3534-87.

Азот газообразный в баллонах с редуктором, ТУ 6-16-40-14-88.

Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.

Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-79.

Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98.

Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.

Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161-77.

Насадка для колонки: хроматон N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30 или ХЕ-60(Чехия).

Натрий серникоислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.

Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Стекловата.

Флорисил 150-250 мк (Merck, Германия), содержание воды ≤2,5%.

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

Хлороформ, ч.д.а., ТУ-2631-020-11291058-96.

Этиловый спирт, ректификат, х.ч., ГОСТ 18300-87

Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.

Элюент для колоночной хроматографии №1: гексан-этилацетат (50:50 по объему).

Элюент для колоночной хроматографии №2: гексан-этилацетат (20:80 по объему).

### **2.3. Приборы и посуда.**

Газовый хроматограф Цвет-550 М или аналогичный с ДЭЗ (ДПР) и стеклянной насадочной колонкой, длиной 1 м; внутренним диаметром 3 мм.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные.

Весы технические ВЛКТ-500, ГОСТ 24104-80.

Мельница лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.

Установка ультразвуковая «Серыга», ТУ 3.836.008.

Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.

Микрошириц МШ-10, МШ- 10М, ТУ 2-833-106.

Насос водоструйный, МРТУ 42 861-64.

Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС, ГОСТ 10384-72.

Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29-32 ТС, ГОСТ 10384-72.

Воронки лабораторные В-75-110, ГОСТ 25 336-82.

Воронки делительные ВД-3-500, ГОСТ 8613-75.

Цилиндры мерные на 100 см<sup>3</sup>, ГОСТ 1774-74.

Колбы мерные на 25, 50, 100 см<sup>3</sup>, ГОСТ 1770-74.

Пипетки на 1, 2, 5, 10 см<sup>3</sup>, ГОСТ 22292-74.

Стаканы химические, ГОСТ 25336-82Е.

Колонка стеклянная хроматографическая длиной 25 см, диаметром 10 мм.

### **2.4. Отбор проб.**

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79). Для длительного хранения пробы семян подсушиваются при комнатной температуре в отсутствии прямого солнечного света. Сухие образцы могут храниться в течение года. Перед анализом пробы семян подсолнечника и сои измельчают на лабораторной мельнице.

### **2.5. Подготовка к определению.**

#### **2.5.1. Подготовка и очистка реагентов и растворителей.**

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с общепринятыми методиками. Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташем (на 1 л ацетона 10 г KMnO<sub>4</sub> и 2 г K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). 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. Кондиционирование колонки.**

Перед началом анализа колонку, заполненную хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30, не присоединяя к детектору, кондиционируют в токе инертного газа

(азот) при температуре 250<sup>0</sup>С в течение 8-10 часов.

### 2.5.3. Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску эсфенвалерата (50 мг), переносят в мерную колбу на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят до метки (Стандартный раствор с концентрацией 1.0 мг/мл). Градуировочные растворы с концентрациями 0,1, 0,2, 0,5, 1,0 и 2,0 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления по объему, используя для разбавления гексан. Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0–4<sup>0</sup>С в течение 6 месяцев, градуировочные растворы – в течение недели.

Для внесения в образец при определении полноты извлечения используют градуировочные растворы.

### 2.5.4. Построение градуировочного графика.

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация эсфенвалерата в растворе) в хроматограф вводят по 1 мкл градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют высоты или площади пиков и строят график зависимости среднего значения высоты (площади) пика от концентрации эсфенвалерата в градуировочном растворе (мкг/мл).

### 2.5.5. Подготовка колонки с флорисилом для очистки экстракта.

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты и вносят суспензию 4,5 г флорисила в 20 мл смеси гексан:этилацетат (1:1, по объему), дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку промывают 25 мл этой же смеси со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

### 2.5.6. Проверка хроматографического поведения эсфенвалерата на колонке с флорисилом.

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,5 мл стандартного раствора эсфенвалерата с концентрацией 1 мкг/мл. Отдывают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 2 мл элюента №1 и вносят в колонку. Колбу обмывают еще 2 мл элюента №1 и также вносят в колонку. Затем промывают колонку 25 мл гексана и элюируют эсфенвалерат 60 мл элюента №2 со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют на содержание эсфенвалерат по п. 2.6.4. Фракции, содержащие эсфенвалерат, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл гексана и анализируют по п. 2.6.4. Рассчитывают содержание эсфенвалерата в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: профиль вымывания эсфенвалерата может меняться при использовании новой партии сорбента.

### **2.5.7. Подготовка приборов и средств измерения.**

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения проводится в соответствии с требованиями стандартов и технической документации.

## **2.6. Проведение определения**

### **2.6.1. Экстракция эсфенвалерата из семян сои и подсолнечника**

Навеску измельченных на лабораторной мельнице семян массой 10 г помещают в коническую колбу на 250 мл, заливают 50-100 мл смеси растворителей ацетон – вода (в соотношении 1:1) и экстрагируют эсфенвалерат в ультразвуковой ванне в течение 15 мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр («красная лента»). Экстракцию повторяют дважды 30 мл той же смеси. Объединенный фильтрат помещают в делительную воронку и перезэкстрагируют эсфенвалерат гексаном трижды порциями по 30 мл. Объединенные гексановые экстракты фильтруют через слой безводного сернокислого натрия. Полученный раствор выпаривают на ротационном испарителе при температуре бани 50°C до полного удаления гексана. Далее проводят очистку экстрактов по п.2.6.3.

### **2.6.2. Экстракция эсфенвалерата из масла подсолнечника**

Навеску масла 10 г растворяют в 60 мл гексана и экстрагируют эсфенвалерат 50 мл ацетонитрила в УЗ-ванне в течение 15 мин. Полученную смесь помещают в делительную воронку объемом 250 мл. После расслоения\* нижний ацетонитрильный слой сливают, из верхнего гексанового слоя экстрагируют эсфенвалерат ацетонитрилом еще дважды порциями по 30 мл. К объединенному ацетонитрильному экстракту добавляют воду в соотношении ацетонитрил:вода = 1:4 и перезэкстрагируют эсфенвалерат хлороформом трижды порциями по 30 мл. Объединенные хлороформные экстракты сушат над безводным сернокислым натрием и выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 50°C. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона и помещают в морозильную камеру с температурой -18°C на 2 часа. Охлажденный ацетоновый раствор декантируют в круглодонную колбу на 10 мл через фильтр «красная лента», после чего фильтр промывают 2 мл ацетона. Полученный раствор упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°C до полного удаления ацетона. Далее очистку проводят по п.2.6.3.

\*В случае образования сравнительно стойких эмульсий можно добавить несколько мл насыщенного раствора хлористого натрия или этилового спирта.

### **2.6.3. Очистка экстрактов на колонке с флорисилом**

Остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.1 и 2.6.2. экстрактов семян или масла, количественно переносят двумя порциями по 2 мл смеси гексан-этилацетат (1:1, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п. 2.5.5.). Промывают колонку 25 мл гексана, которые отбрасывают. Эсфенвалерат элюируют 60 мл элюента №2 (гексан-этилацетат = 2:8). Весь элюат собирают в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 50°C. Сухой остаток растворяют в 1-2 мл гексана и 1 мкл раствора вводят в хроматограф.

#### 2.6.4. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Цвет-550М» с ДПР (ДЭЗ) или аналогичный.

1. Колонка стеклянная 1 м x 3 мм, заполненная хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30.

Температура колонки 250<sup>0</sup>С, испарителя 250<sup>0</sup>С, детектора 320<sup>0</sup>С

Скорость газа-носителя (азот) через колонку 41 см<sup>3</sup>/мин.

Шкала электрометра 8x10<sup>10</sup>.

Объем вводимой пробы 1 мкл.

Время удерживания эсфенвалерата 3 мин 15 сек.

Линейный диапазон детектирования 0.1 – 2 нг.

#### 2.6.6. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание эсфенвалерата в образце семян или масла ( $X$ , мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{H_2 \times C \times V}{H_1 \times P}$$

где  $H_1$  – высота (площадь) пика эсфенвалерата в стандартном растворе, мм;

$H_2$  – высота (площадь) пика эсфенвалерата в анализируемой пробе, мм;

$V$  – объём экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

$P$  – навеска анализируемого образца, г;

$C$  – концентрация эсфенвалерата в стандартном растворе, мкг/мл.

Содержание остаточных количеств эсфенвалерата в анализируемом образце вычисляют как среднее из 3-х параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор эсфенвалерата 2 мкг/мл, разбавляют.

#### 3. Требования техники безопасности.

При проведении работы необходимо соблюдать требования инструкции «Основные правила безопасной работы в химической лаборатории», общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, а также инструкции по эксплуатации газового хроматографа и электрооборудования до 400 В.

#### 4. Контроль погрешности измерений.

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

#### 5. Разработчики.

Цибульская И.А., Копытова Ф.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР).