Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 2
МУК 4.1.1430—4.1.1433—03

Москва • 2004

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 июня 2003 г.
Дата введения: 30 июня 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение концентраций Спиносада в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1433—03

1. Вводная часть

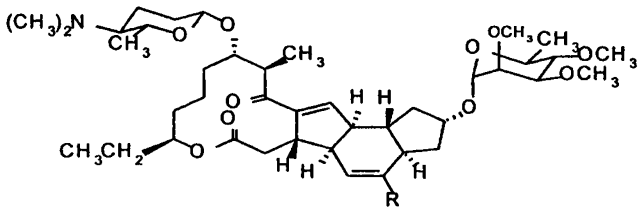
Фирма производитель: Дау Агро Сайенс.

Торговое название: Спинотор.

Название действующего вещества по ИСО: Спиносад.

Синонимы: XDE-105; DE-105.

Название действующего вещества по ИЮПАК: смесь (2*R*,3a*R*,5a*R*,5b*S*,9*S*,13*S*,14*R*,16a*S*,16b*R*)-2-(6-дезокси-2,3,4-три-*O*-метил-α-L-манно-пиранозилокси)-13-(4-диметиламино-2,3,4,6-тетрадеокси-β-D-эритропиранозилокси)-9-этил-2,3,3a,5a,5b, 6,7,9,10,11,12,3,14, 5,16a,16b-гексадекогидро-14-метил-1*H*-8-оксациклододека-[*b*]*as*-индацен-7,15-диона и (2*S*,3a*R*,5a*S*,5b*S*, 9*S*,13*S*, 14*R*, 16a*S*,16b*S*)-2-(6-дезокси-2,3,4-три-*O*-метил α-L-маннопиранозилокси)-13-(4-диметиламино-2,3,4,6-тетрадезокси-β-D-эритропиранозилокси)-9-этил-2,3,3a,5a, 5b,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-гексадекогидро-4,14-диметил-1*H*-8-оксациклододека[*b*]*as*-индацен-7,15-диона в соотношении от 50—95 до 50—5 %.



Спинозин A, R = H-

Спинозин D, R = CH_3 -

Эмпирическая формула: Спинозин А – $C_{41}H_{65}NO_{10}$; Спинозин Д – $C_{42}H_{67}NO_{10}$.

Молекулярная масса: Спинозин А – 732,0; Спинозин Д – 746,0.

Спиносад представляет собой светло-серый или белый кристаллический порошок.

Температура плавления: Спинозин А – 84,0—99,5 °С; Спинозин Д – 161,5—170,0 °С.

Давление паров $3,0 \cdot 10^{-5}$ мПа (при 25 °С) – Спинозин А; $2,0 \cdot 10^{-5}$ мПа (при 25 °С) – Спинозин Д.

Коэффициент распределения в системе октанол – вода:

Спинозин А – K_{ow} log P 2,8 (pH 5) , 4,0 (pH 7), 5,2 (pH 9);

Спинозин Д – K_{ow} log P 3,2 (pH 5) , 4,5 (pH 7), 5,2 (pH 9).

Растворимость в воде:

Спинозин А – 89 мг/л (дистиллированная вода), 235 мг/л (pH 7) (при 20 °С);

Спинозин Д – 0,5 мг/л (дистиллированная вода), 0,33 мг/л (pH 7) (при 20 °С).

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С):

Спинозин А: ацетон – 16,8, ацетонитрил – 13,4, хлористый метилен – 52,5, метанол – 19,0, гексан – 0,448, толуол – 45,7, н-октанол – 0,926;

Спинозин Д: ацетон – 1,01, ацетонитрил – 0,255, хлористый метилен – 44,8, метанол – 0,252, гексан – 0,743, толуол – 15,2, н-октанол – 0,127.

Оба вещества устойчивы к гидролизу при pH 5 и pH 7; $ДТ_{50}$ при pH 9 составляет 200 дней для Спинозина А и 259 дней для Спинози-

на Д. Фотодеградация в воде: $ДТ_{50}$ при pH 7 составляет 0,93 дня для Спинозина А и 0,82 дня для Спинозина Д.

Спиносад быстро разлагается под действием ультрафиолета, в почве метаболизируется бактериями с образованием «природных» соединений. Время полуразложения в почве $ДТ_{50}$ при аэробном метаболизме составляет 9,4—17,3 дня; $ДТ_{50}$ при фотодеградации в почве составляет 8,7 дня для Спинозина А и 9,4 дня для Спинозина Д. При анаэробном водном метаболизме $ДТ_{50}$ составляет 161 день для Спинозина А и 250 дней для Спинозина Д.

Краткая токсикологическая характеристика. Спиносад относится к малоопасным соединениям по оральной ($ЛД_{50}$ для самок крыс 3 783 мг/кг, для самцов крыс – более 5 000 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов более 2 000 мг/кг) токсичности и умеренно опасным по ингаляционной ($ЛК_{50}$ для крыс – 4 ч – более 5,18 мг/л) токсичности. Он не вызывает раздражения кожи, отмечается лишь слабое покраснение глаз у кроликов. Не обладает мутагенным и нейротоксичным свойствами или репродуктивной токсичностью.

В России гигиенические нормативы не установлены.

Область применения препарата. Спиносад – инсектицид контактного и кишечного действия из группы спинозинов, обладающий парализующим эффектом. Он эффективно подавляет развитие вредителей из отрядов жесткокрылых, бахромчатокрылых, прямокрылых, двукрылых и чешуекрылых (имаго и личинки) в посевах зерновых, плодовых, овощных и декоративных культур при норме расхода 5—40 г д.в./га. Препараты на основе Спиносада используется также для борьбы с синантропными насекомыми и в ветеринарии.

В России и странах СНГ проходят регистрационные испытания препарата Спинотор в качестве инсектицида на огурцах и перцах закрытого грунта, в яблоневых садах и на посадках картофеля и капусты с нормой расхода 1,0—1,5 л/га по препарату при однократной обработке (яблони и картофель), при двукратной обработке на огурцах закрытого грунта.

2. Методика измерения концентраций спиносада в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип методики

Методика основана на определении концентрации веществ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором.

Отбор проб воздуха осуществляется концентрированием аэрозоля на бумажные фильтры «синяя лента». Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии компонентов препаративной формы.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода (P = 0,95)

Число параллельных определений – 6.

Предел обнаружения в хроматографируемом объеме – 5 нг (каждого из соединений).

Предел обнаружения в воздухе при отборе 50 дм^3 воздуха – 0,02 мг/м^3.

Диапазон определяемых концентраций – 0,02—0,2 мг/м^3 (при отборе 50 дм^3 воздуха).

Среднее значение определения – 96 %.

Стандартное отклонение (S) – 2,23 %.

Относительное стандартное отклонение (DS) -- 0,91 %.

Доверительный интервал среднего – 2,34 %.

Суммарная погрешность измерения не превышает 20,4 %.

2.2. Реактивы, растворы и материалы

Спинозин А с содержанием д.в. 91,2 % (Дау Агро Сайенс, Англия)	
Спинозин Д с содержанием д.в. 94 % (Дау Агро Сайенс, Англия)	
Аммоний уксусно-кислый, хч,	ГОСТ 3117—78
Ацетон, чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для жидкостной хроматографии (УФ 210 нм)	ТУ 6-09-4326—76
Вода дистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	

Метанол-яд, хч	ГОСТ 6995—77
Бумажные фильтры «синяя лента», обеззоленные, предварительно промытые ацетоном	ТУ 6-09-2678—77

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Жидкостной хроматограф Waters (США) с ультрафиолетовым детектором	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 3,9 мм, содержащая XTerra MS C18, зернение 5 мкм; предколонка Symmetry Sheld RP 18, длиной 2 см, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм	
Микрошприц для жидкостного хроматографа, вместимостью 50—100 мкл	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или аналогичный	ТУ 25-11-917—76
Весы аналитические типа ВЛА-200	ГОСТ 34104—80Е
Насос водоструйный	ГОСТ 10696—75
Аспирационное устройство типа ЭА-1 или аналогичное	ТУ 25-11-1414—78
Барометр	ТУ 2504-1797—75
Термометр лабораторный шкальный ТЛ-2, цена деления 1 °С, пределы измерения 0—55 °С	ГОСТ 215—73Е
Колбы мерные, вместимостью 100 и 1 000 мл	ГОСТ 1770—74
Цилиндры мерные, вместимостью 10 и 500 мл	ГОСТ 1770—74Е
Колбы грушевидные со шлифом, вместимостью 100 мл	ГОСТ 10394—72
Пробирки центрифужные	ГОСТ 25336—82Е
Стаканы химические, вместимостью 100 мл	ГОСТ 25336—82Е
Пипетки, вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл	ГОСТ 20292—74
Воронки химические, конусные, диаметром 34—40 мм	ГОСТ 25336—82 Е
Груша резиновая	
Фильтродержатели	
Стеклянные палочки	

2.4. Отбор проб

Воздух со скоростью 5 дм^3/мин пропускают через фильтр «синяя лента», помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации вещества на уровне 0,02 мг/м^3 следует отобрать 50 дм^3 воздуха.

Фильтры с отобранными пробами, помещенные в герметически закрываемые склянки, можно хранить в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С в течение 15 дней.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Приготовление 2 %-ного раствора аммония уксусно-кислого

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2 г уксуснокислого аммония, добавляют 50—70 мл дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения вещества, доводят дистиллированной водой до метки, вновь перемешивают.

2.5.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

Отмеряют по 350 мл ацетонитрила и метанола, переносят в мерную колбу вместимостью 1 000 мл, добавляют 200 мл 2 %-ного раствора уксусно-кислого аммония (по п. 2.5.1), фильтруют и дегазируют.

2.5.3. Кондиционирование колонки

Промыть колонку для ВЭЖХ подвижной фазой при скорости подачи растворителя 1 мл/мин в течение 30—45 мин до получения стабильной базовой линии.

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор Спинозина А (Спинозина Д) с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,1094 г препарата, содержащего 91,4 % д.в. (0,1064 г препарата, содержащего 94 % д.в.), в смеси ацетонитрил : метанол в соотношении 1 : 1 (по объему) в мерной колбе вместимостью 100 мл. Затем по 10,0 мл стандартных растворов Спинозина А или Спинозина Д с концентрацией 100 мкг/мл отбирают пипеткой в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки смесью растворителей ацетонитрил : метанол (1 : 1). Получают стандартные растворы, содержащие по 10,0 мкг/мл Спинозина А или Спинозина Д. Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят стандартные растворы, содержащие по 2,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/мл Спинозина А и Спинозина Д.

Стандартные растворы можно хранить в холодильнике при (6 ± 2) °С в течение 3 месяцев.

2.5.5. Построение градуировочных графиков

Для построения градуировочных графиков в инжектор хроматографа вводят по 20 мкл рабочего стандартного раствора Спинозина А или Спинозина Д с концентрацией 0,25; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/мл. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений. Находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. Строят градуировочные графики зависимости площади хроматографического пика от концентраций Спинозина А и Спинозина Д в растворе (мкг/мл).

2.6. Описание определения

Фильтр с отобранной пробой переносят в химический стакан вместимостью 100 мл, заливают 10 мл ацетона, оставляют на 10—15 мин, периодически перемешивая. Растворитель сливают, отжимая фильтр стеклянной палочкой. Фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями ацетона объемом 10 мл.

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха, остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, фильтруют или центрифугируют для удаления взвеси и хроматографируют.

2.7. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Waters (США).

Колонка стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 3,9 мм, содержащая XTerra MS C18, зернением 5 мкм, предколонка Symmetry Sheld RP 18, длиной 2 см, внутренним диаметром 3,9 мм, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная.

Подвижная фаза: ацетонитрил – метанол – 2 %-ный уксуснокислый аммоний (35 : 35 : 20, по объему).

Скорость потока элюента: 1 мл/мин.

Рабочая длина волны: 245 нм.

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу.

Объем вводимой пробы: 20 мкл.

Время выхода: Спинозин А: 11,432—11,437 мин;
Спинозин Д: 14,910—14,915 мин.

Линейный диапазон детектирования: 5,0—50,0 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 2,5 мкг/мл, разбавляют ацетонитрилом.

2.8. Обработка результатов анализа

Содержание Спиносада в пробе воздуха рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(C_a + C_д) \cdot W}{V}, \text{ где}$$

X – содержание Спиносада в пробе воздуха, мг/м^3;

C_A – концентрация Спинозина А в хроматографируемом растворе, найденная по калибровочному графику, мкг/мл;

$C_д$ – концентрация Спинозина Д в хроматографируемом растворе, найденная по калибровочному графику, мкг/мл;

W – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

V – объем пробы воздуха, отобранный для анализа, приведенный к стандартным условиям (давление 760 мм рт.ст., температура 20 °С), дм^3.

3. Требования техники безопасности

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

4. Разработчики

Калинин В. А., профессор, канд. с-х. наук, Довгилевич Е. В., канд. биол. наук, Калинина Т. С., канд. с-х. наук, Довгилевич А. В., канд. хим. наук, Устименко Н. В., канд. биол. наук.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976- 43-26.