УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель министра здравоохранения
Российской Федерации
Г.Г.ОНИЩЕНКО

24 июня 2003 г.

МУК 4.1.1475-03

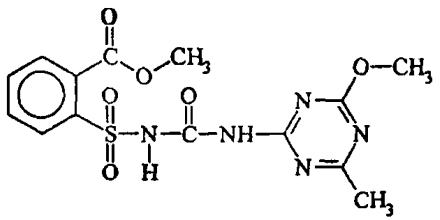
Дата введения: 30 июня 2003 г.

ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ МЕТСУЛЬФУРОН-МЕТИЛА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, ЗЕРНЕ И СОЛОМЕ ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ КУЛЬТУР МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

(Модификация методических указаний МУК 4.1.1224а-03)

1. Вводная часть

Торговое наименование: Аккурат, Алмазис, Терамет, Артен.
Фирма производитель: Кеминова, Алсико-Агрохим, Экопродком, Северо-Кавказский Агрохим.
Действующее вещество: метсульфурон-метил.
Структурная формула:



Метил 2[[[[(4-метокси-6-метил-1,3,5-триазин-2-ил)амино]карбоинл]амино]сульфонил]бензоат
Мол. масса: 381,4.
Брутто формула: $C_{14}H_{15}N_5O_6S$
Химически чистый метсульфурон-метил представляет собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 158°С, давлением паров $3.3x10^{-7}$ мРа (25°С).
Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} lgP=-1.74 (pH 7).
Растворимость (г/л): в воде 0.55(pH 5), 2.79 (pH 7), 213 (pH 9) при 25°С;
дихлорметане - 121, ацетоне - 36, метаноле - 7.3, этаноле -2.3, ксилоле -0.58 (20°С).
Стабилен на воздухе до 140°С, в нейтральных и щелочных растворах при 25°С.
Группа токсичности по ЕПА -1V, ВОЗ - Ш (табл.5); LD_{50} для крыс >5000 мг/кг.
Область применения: послевсходовый гербицид, применяется на зерновых культурах для борьбы с однолетними и некоторыми многолетними двудольными сорняками, в том числе устойчивыми к 2,4-Д видами. Используется в препаративной форме СП (смачивающийся порошок) с нормой расхода по препарату 25 г/га (по действующему веществу 15 г/га).

gost.e-ecolog.ru

Гигиенические нормативы для метсульфурон-метила в России:
ОДК в почве – 0.3 мг/кг, ПДК в воде водоемов – 0.05 мг/дм^3. МДУ в зерне хлебных злаков – 0.05 мг/кг.

2. Методика определения метсульфурон-метила в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом ВЭЖХ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении метсульфурон-метила методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов смесью ацетон–вода с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями, на патронах, содержащих обращённую фазу С16 и на колонке с силикагелем.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Объект анализа	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон измеряемых концентраций мг/кг	Среднее значение определения, % (для каждого объекта n=24)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, n=24, P=0.95
Вода	0.005	0.005-0.04	97.6	2.9	3.2
Почва	0.025	0.025-0.2	92.5	4.6	5.1
Солома	0.1	0.1- 0.8	85.4	7.4	6.5
Зерно	0.025	0.025 - 0.2	85.5	6.6	5.8

Таблица 2

Полнота определения метсульфурон-метила в воде, почве, зерне и соломе пшеницы (n = 6 для каждой концентрации)

Среда	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, ±	Полнота определения, %
1	2	3	4	5
Вода	0.005	0.0046	0.0003	92.0
	0.010	0.00999	0.0001	99.9
	0.020	0.0198	0.001	99.0
	0.040	0.0398	0.0008	99.4
Среднее				**97.6**

Почва	**0.025**	**0.0239**	**0.0008**	**95.5**
	0.050	0.0466	0.001	93.3
	0.100	0.0872	0.002	87.2
	0.200	0.1880	0.002	94.1
Среднее				92.5
1	2	3	4	5
Солома	0.100	0.0818	0.009	81.8
	0.200	0.171	0.017	85.7
	0.400	0.342	0.025	85.6
	0.800	0.706	0.048	88.3
Среднее				85.4
Зерно	0.025	0.0209	0.002	83.6
	0.050	0.0432	**0.004**	86.3
	0.100	0.0845	**0.005**	84.5
	0.200	0.1754	0.011	87.7
Среднее				85.5

2.1.3. Избирательность метода

Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, осч, ТУ 6-09-3513-86.
Ацетонитрил для ВЭЖХ, "В-230НМ" или х.ч., ТУ 6-09-3534-87.
Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.
Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 6709-79.
Дихлорметан, х.ч., ТУ 6-09-3716-80.
Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.
Калий фосфорнокислый 2-замещенный, 3-водный, чда, ГОСТ 2493-75; 0.1М водный раствор.
Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.
Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161–77.
Кислота ортофосфорная, имп. (Ferak, Германия) или хч, ГОСТ 6552-80; 2М и 0.005М водные растворы.
Кислота серная, х.ч., ГОСТ 4204-77.
Концентрирующие патроны Диапак–С16 (0,6 г)
Метсульфурон-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 95%, производства фирмы "Кеминова" (Дания).
Натрий двууглекислый, ГОСТ 83–79.
Натрий сернокислый безводный, ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.
Натрия гидроксид, хч., ГОСТ 4328-77.
н-Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98, свежеперегнанный.
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил – 0,005М ортофосфорная кислота (34:66, по объему).
Силикагель для колоночной хроматографии Л 100/250μm (Chemapol, Чехословакия).
Стекловата.
Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.
Элюент №1 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (50:50, по объему).

Элюент №2 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (20:80, по объему).
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.

2.3. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы "Waters" с УФ детектором с дегазатором и автоматическим пробоотборником или аналогичный.
Колонка Symmetry C-18 (250x4.6) мм, 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная.
Предколонка Symmetry C-18 (Waters).
Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные.
Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836.008.
Мельница ножевая РМ-120 и лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.
Бидистиллятор.
РН-метр универсальный ЭВ-74, ГОСТ 22261-76.
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-3-250, ГОСТ 8613-75.
Цилиндры мерные на 100, 250 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1774-74.
Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1000 $см^3$, ГОСТ 1770-74.
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$, ГОСТ 22292–74.
Колонки стеклянные (25×1) см.
Насос водоструйный, ГОСТ 10696–75
Аллонж прямой с отводом для вакуума (используется для работы с концентрирующими патронами Диапак–С16)

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). Пробы зерна и соломы для определения остатков в урожае хранят в бумажной или тканевой упаковке при комнатной температуре. Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, зерно и солому измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка картриджа Диапак–С16 для очистки экстракта

Все процедуры проводят с использованием вакуума, скорость потока элюента не должна превышать 2–2.5 мл/мин.

Перед использованием картридж промывают последовательно 10 мл смеси ацетон–вода в соотношении 1:1 и 10 мл дистиллированной воды.

Внимание! Нельзя допускать высыхания поверхности картриджа!

Примечание: параметры удерживания метсульфурон-метила и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии картриджей.

2.5.2. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с типовыми методиками. Гексан и хлористый метилен встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции кислоты, затем 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 поташем (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 объёмом 5%-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.3. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа колонку (Symmetry C–18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 мл/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1-2 часов.

2.5.4. Приготовление растворов

Для приготовления 2М раствора ортофосфорной кислоты 200 г 98% (или 225 г 87%) кристаллической H_3PO_4 помещают в мерную колбу объемом 1 л, растворяют в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Для приготовления 0.005М раствора ортофосфорной кислоты 2.5 мл 2М раствора H_3PO_4 вносят в мерную колбу на 1 л и доводят до метки деионизированным бидистиллятом.

Для приготовления 0.1М раствора K_2HPO_4 22.8 г кристаллического калия фосфорнокислого двузамещенного трехводного помещают в мерную колбу на 1 л, растворяют при перемешивании в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем раствора до метки.

Для получения 90%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 900 мл ацетона со 100 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для получения 50%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 500 мл ацетона со 500 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для получения 5%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 50 мл ацетона со 950 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с 0.005М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 34:66 по объему, используя мерные цилиндры.

Для приготовления элюента №1 в колбе на 1000 мл смешивают 500 мл н-гексана и 500 мл этилацетата. Для приготовления элюента №2 в колбе на 1000 мл смешивают 200 мл н-гексана и 800 мл этилацетата.

Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску метсульфурон-метила (50 мг), переносят в мерную колбу на 100 мл, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки. (Стандартный раствор с концентрацией 0.5 мг/мл). Градуировочные растворы с концентрациями 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрил : 0.005М ортофосфорная кислота (34:66, по объему).

Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0–4°С в течение 1 месяца, градуировочные растворы и растворы проб – в течение суток.

При изучении полноты открывания метсульфурон-метила используют ацетонитрильные растворы вещества. Растворы внесения с концентрациями 0.1 и 1.0 мкг/мл готовят из стандартного раствора с концентрацией 0.5 мг/мл методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

2.5.5. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация метсульфурон-метила в растворе) в хроматограф вводят по 20 мкл градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации метсульфурон-метила в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.5.5. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 30 мл смеси гексан – этилацетат (50: 50, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 50 мл элюента №2 и 50 мл элюента №1 со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.6. Проверка хроматографического поведения метсульфурон-метила на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора метсульфурон-метила с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха (температура не выше 40°С), остаток растворяют в 5 мл элюента №1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 мл элюента №1 и также вносят на колонку. Промывают колонку 50 мл элюента №1, затем 100 мл элюента №2 со скоростью 1–2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.4.) и анализируют на содержание метсульфурон-метила по п. 2.6.6.

Фракции, содержащие метсульфурон-метил, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.6.6. Рассчитывают содержание метсульфурон-метила в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: параметры удерживания метсульфурон-метила и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

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. Извлечение метсульфурон-метила из проб воды

К образцу предварительно отфильтрованной воды объемом 100 мл, добавляют 2.28г K_2HPO_4 и перемешивают до растворения соли. Полученный раствор переносят в делительную воронку емкостью 250 мл, промывают трижды хлористым метиленом порциями по 40 мл, встряхивая каждый раз в течение 2-3 мин. Нижний органический слой отбрасывают, водную фазу подкисляют 2М ортофосфорной кислотой до pH 3 и экстрагируют метсульфурон-метил хлористым метиленом трижды порциями по 50 мл, встряхивая каждый раз в течение 2-3 мин. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10-15 мл хлористого метилена. После этого экстракт упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. При необходимости проводят дополнительную очистку экстракта на колонке с силикагелем по пункту 2.6.5.

Сухой остаток растворяют в 4 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.2. Извлечение метсульфурон-метила из проб почвы.

Образец воздушно-сухой почвы массой 20 г помещают в коническую колбу емкостью 250 мл с притертой пробкой, добавляют 100 мл 90%-го водного ацетона и экстрагируют в течение 15 мин на ультразвуковой бане. Суспензию фильтруют на стеклянной воронке через бумажный фильтр "красная лента". Экстракцию повторяют с 50 мл 90%-ного водного ацетона. Объединенные экстракты упаривают до водного остатка (10-15 мл) на роторном испарителе при температуре не выше 40°С.

Водный остаток переносят в делительную воронку объемом 250 мл, добавляют 90 мл 0,1М раствора K_2HPO_4 и 20 мл хлористого метилена, смесь встряхивают в течение 2 мин. Нижний органический слой отбрасывают, а водную фазу обрабатывают хлористым метиленом еще 2 раза (по 20 мл). Затем водную фазу подкисляют 2М ортофосфорной кислотой до pH 3 и метсульфурон-метил экстрагируют хлористым метиленом трижды по 30 мл, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2-3 мин*. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10-15 мл хлористого метилена. Полученный раствор упаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5**.

2.6.3. Извлечение метсульфурон-метила из проб соломы и зерна зерновых колосовых культур

Навеску измельченной на ножевой мельнице соломы (5г), или размолотого на лабораторной мельнице зерна (20г) помещают в коническую колбу емкостью 250 мл и экстрагируют метсульфурон-метил 50 мл 50%-ного водного ацетона на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Экстракцию повторяют. Объединенный экстракт упаривают на ротационном

испарителе при температуре бани не выше 40°С до полного удаления ацетона (объем ~50мл).

Объединённый водный экстракт промывают трижды гексаном порциями по 30 мл (верхний органический слой отбрасывают), встряхивая делительную воронку каждый раз по 2-3 мин*. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.4.

*** Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке.** В случае образования сравнительно стойких эмульсий для сокращения времени расслоения можно добавить в делительную воронку: на стадии промывки экстрактов гексаном и хлористым метиленом – небольшое количество (до 1 мл) этилового спирта, а на стадии переэкстракции – насыщенный раствор хлорида натрия (15–20 мл).

2.6.4. Очистка экстрактов на картриджах Диапак–С16

Полученный по п. 2.6.3. экстракт вносят на картридж. Картридж промывают 50 мл дистиллированной воды. Элюат отбрасывают. Метсульфурон-метил элюируют с картриджа 100 мл смеси ацетон–вода в соотношении 5:95 (п. 2.5.4.). Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°С до полного удаления ацетона. Из водного раствора экстрагируют метсульфурон-метил хлористым метиленом трижды порциями по 30 мл, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2-3 мин. Верхний водный слой отбрасывают. Объединённый метиленхлоридный экстракт сушат, пропуская через слой безводного сернокислого натрия (5 г) и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5**.

** В случаях, когда очистка экстрактов контрольных проб (п.п. 2.6.2. и 2.6.4.) дает удовлетворительные результаты дополнительную очистку на колонке с силикагелем можно исключить.

2.6.5. Очистка экстрактов на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.2. и 2.6.3. экстрактов почвы и растительного материала количественно переносят двумя 5-мл порциями смеси гексан – этилацетат (50:50, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п.2.5.5.). Промывают колонку 50 мл элюента №1, которые отбрасывают. Метсульфурон-метил элюируют 100 мл элюента №2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 250 мл. Раствор упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.6. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы Waters с УФ детектором (Waters 2487) или другой с аналогичными характеристиками. Рабочая длина волны 223 нм.

Предколонка Waters Symmetry C-18 для защиты аналитической колонки.

1. Колонка Symmetry C-18 (250 x 4.6) mm, 5 um (Waters, USA). Температура колонки 30±1°С. Подвижная фаза: ацетонитрил - 0.005М раствор ортофосфорной кислоты в соотношении 34:66. Скорость потока 1 мл/мин. Время удерживания метсульфурон-метила 12.9±0.1 мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Линейный диапазон детектирования 0.1 - 2.0 мкг/мл.

2. Колонка Nova-Pac C-18 (150 x 3.9) мм, 4 мкм (Waters, USA). Температура колонки

комнатная (в отсутствие термостатирования). Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.005М раствор ортофосфорной кислоты в соотношении 28:72 (по объему). Скорость потока элюэнта: 1 мл/мин.Время удерживания метсульфурон-метила 9.8 ± 0.3 мин.

2.6.7. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание метсульфурон-метила в образце воды, почвы или растений (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P},$$

где S_1- площадь пика метсульфурон-метила в стандартном растворе, мм;
S_2- площадь пика метсульфурон-метила в анализируемой пробе, мм;
V - объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, мл;
P - навеска анализируемого образца, г, (для воды - объем, мл);
C - концентрация стандартного раствора метсульфурон-метила, мкг/мл.

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

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор метсульфурон-метила 2 мкг/мл, разбавляют неподвижной фазой для ВЭЖХ.

3. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе в химических лабораториях, а также инструкции по эксплуатации жидкостного хроматографа и других используемых приборов.

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., Юзихин О.С., Долженко В.И. (ВНИИ защиты растений).

gost.e-ecolog.ru