УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации-
Первый заместитель
Министра здравоохранения
Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

«04» 03 2004 г.

Дата введения: с 1 мая 2004 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

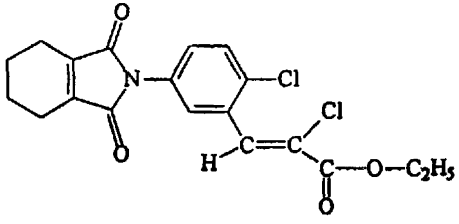
Методические указания по определению остаточных количеств цинидон-этила в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии.

Методические указания
МУК 4.1. 1873 – 04

---

1. Вводная часть

Фирма-производитель: БАСФ.
Торговое название: Лотус-Д.
Название действующего вещества по ИСО: Цинидон-этил
Название действующего вещества по ИЮПАК: Этил (Z)-2-хлор-3-[2-хлор-5-(1,3-диоксо-4.5.6,7-тетрагидроизоиндол-2-ил)фенил]акрилат.



Эмпирическая формула: $C_{19}H_{17}Cl_2NO_4$.
Молекулярная масса: 394,2.
Химически чистый Цинидон-этил представляет собой белое кристаллическое вещество с кислым запахом.
Давление паров: < 1,0 x 10^{-7} мбар при 20° С.
Температура плавления:112 - 114°С.
Коэффициент перераспределения н-октанол/ вода: K_{ow} logP = 4.51 (25° С).
Растворимость (г/100 мл): дихлорметан - 142,0; ацетон – 25,6; этилацетат – 18,64; толуол – 53,9; метанол - 0,8; н-гептан – 0.2.

gost.e-ecolog.ru

Цинидон-этил не стабилен в водных растворах при pH 3-5, 7 и 9.

Период полураспада вещества в почве 4-5,4 дня.

Краткая токсикологическая характеристика: Цинидон-этил относится к малоопасным для человека и теплокровных животных веществам по оральной ($ЛД_{50}$ для крыс >2000 мг/кг) дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс >2000 мг/кг) и к умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($ЛК_{50}$ для крыс 5,3 мг/л).

В России гигиенические нормативы не установлены. Предложенная фирмой ДСД – 0,01 мг/кг в сутки.

Цинидон-этил - гербицид системного действия из группы производных изоиндолдиона, эффективно подавляет развитие двудольных сорняков в посевах зерновых колосовых культур.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ под торговым названием Лотус Д, к. э., (37,8% эфира 2,4-Д и 4,5% Цинидон-этила), на зерновых культурах в качестве гербицида с нормой расхода 1,0 л препарата на гектар.

2. Методика определения остаточных количеств Цинидон-этила в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Методика основана на определении Цинидон-этила с помощью газожидкостной хроматографии при использовании детектора с постоянной скоростью рекомбинации ионов на неподвижной фазе OV-1 после экстракции органическим растворителем и очистки экстракта перераспределением действующего вещества между несмешивающимися фазами.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании зерновых культур.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода.

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 – 2.

Таблица 1.

Метрологическая характеристика метода.

	Метрологические параметры, p=0,95, n=20				
Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата %, ±
вода	0,001	0,001-0,1	93,9	1,14	2,25
почва	0,01	0,01-0,1	76,6	1,40	2,24
зерно	0,01	0,01-0,1	84,9	0,96	1,70
солома	0,05	0,05-0,5	76,9	1,61	2,58

Таблица 2

Доверительный интервал и полнота определения Цинидон-этила в воде, почве, зерне и соломе колосовых культур.

среда	Добавлено Цинидон-этила, мг/кг	обнаружено Цинидон-этила, мг/кг	доверительный интервал, ±	полнота определения, %
1	2	3	4	5
вода	0,01	0,00915	0,004	91,5
	0,005	0,0046	0,003	92,7
	0,002	0,00193	0,0008	96,5
	0,001	0,00095	0,00085	95,0
почва	0,1	0,0759	0,002	75,9
	0,05	0,387	0,003	77,4
	0,02	0,0152	0,0009	76,0
	0,01	0,0077	0,00097	77,1
зерно	0,1	0,085	0,003	85,1
	0,05	0,042	0,002	83,6
	0,02	0,017	0,0009	85,0
	0,01	0,009	0,001	86,0

Продолжение таблицы 2.

1	2	3	4	5
солома	0,5	0,367	0,011	73,3
	0,25	0,189	0,015	75,6
	0,1	0,0788	0,0069	78,8
	0,05	0,04	0,0043	80,0

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование.

2.2.1. Реактивы ,материалы и растворы.

Цинидон-этил, аналитический стандарт фирмы БАСФ с содержанием д.в. 99,6%.

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон, ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Насадка для колонки: OV-1 3% на Инертоне Супер, размер частиц 0,12-0,16 мм, Хемапол, Чехия.

Натрий сернокислый, безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76.

Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ .4233-77.

Метилен хлористый, ГОСТ 19433-88.

Толуол, ГОСТ 5789-78.

Кислота ортофосфорная(85%), ГОСТ 6552-80.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12 H_2O, ГОСТ

Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12 H_2O 0,1 М раствор с pH =5 – фосфатный буфер. Фосфатный буфер готовят в мерной колбе емкостью 1 л, растворяя в дистиллированной воде 35,8 г натрия фосфорнокислого двузамещенного 12 H_2O. В полученный раствор по каплям добавляют ортофосфорную кислоту (85%) до pH=5.

2.2.2.Приборы, аппаратура, посуда.

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081 – 73 или аналогичный.

Баня водяная, ТУ 46-22-603-75.

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

Водоструйный насос, ГОСТ 10696-75.

Воронки делительные на 250 и 500 мл, ГОСТ 10054-75.

Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

Гомогенизатор, МРТУ 42-1505-63.

Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 мл, КПШ-100, КПШ-250, ГОСТ 10394-72.

Колбы мерные на 10, 25, 50, 100 и 1000 мл, ГОСТ 1770-74.

Концентраторы грушевидные НШ29 КГУ-100 (250) ГОСТ 10394-72.

Микрошприц на 10 мкл, ТУ 2.833.106.

Пипетки мерные на 1,0 и 5,0 мл, ГОСТ 20292-74.

pH-метр-милливольтметр - pH-метр-673 м или аналогичный.

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

Стаканы стеклянные химические на 100 мл, ГОСТ 6236-72.

Стеклянные палочки.

Фильтры бумажные "Красная лента" ТУ 6-09-1678-86.

Хроматограф газовый с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов ^{63}Ni"Цвет-600"с пределом детектирования по Линдану не выше $4\ 10^{-14}$ или другой аналогичного типа.

Центрифуга, МРТУ 42-219 – 69 или аналогичная.

Цилиндры мерные, ГОСТ 1770-74, вместимостью 10 и 100мл.

2.3. Подготовка к определению.

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонки для газожидкостной хроматографии.

Готовую насадку (3% OV-1 на Инертоне Супер) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 280° С в течение 8-10 часов.

2.3.2. Приготовление стандартных растворов.

Взвешивают 50 мг Цинидон-этила в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном (стандартный раствор № 1, концентрация 1 мг/мл).

Стандартный раствор № 1 можно хранить в холодильнике в течение 6 месяцев.

Методом последовательного разбавления готовят стандартные растворы Цинидон-этила в ацетоне с концентрацией 0,5; 0,25 0,10 и 0,05 мкг/мл для построения калибровочного графика и внесения в контрольный образец.

2.3.3. Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика вводят в хроматограф последовательно по 3 мкл каждого из полученных четырех растворов (для каждой концентрации делают не менее 3-х вводов), измеряют высоту или площадь пиков, рассчитывают среднее значение высоты пика или его площади для каждой концентрации и строят график зависимости высоты пика или площади от концентрации Цинидон-этила в мкг/мл.

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" (N 2051-79 от 21.08.79). Отобранные пробы зерна и соломы подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре 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 0,1 мм. Зерно и солому измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Описание определения.

2.5.1.Вода.

Образец воды объемом 200 мл помещают в делительную воронку на 500 мл и экстрагируют метилен хлоридом порцией 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения слоев нижний метилен хлоридный слой собирают в концентратор, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водный слой оставляют в делительной воронке. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 30 мл метилен хлорида каждый раз и пропуская его через слой безводного сульфата натрия. Объединенный метилен хлоридный экстракт выпаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40°С досуха, остаток растворяют в 4 мл ацетона и вводят в хроматограф 3 мкл пробы.

2.5.2. Почва.

Образец воздушно сухой почвы массой 20 г заливают 25 мл фосфатного буфера, добавляют 75 мл толуола встряхивают смесь на аппарате для встряхивания 1,5 часа. Затем пробу центрифугируют в течение 2 минут при 5000 об./мин. Экстракт осторожно сливают по стеклянной палочке в делительную воронку емкостью 250 мл. После разделения водного и толуольного слоев, нижний водный слой сливают в стакан и отбрасывают. Толуольный экстракт собирают в концентратор, пропуская его через слой безводного сульфата натрия, и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40° С. Сухой остаток в концентраторе разводят в 50 мл ацетонитрила и переносят в чистую делительную воронку. Ацетонитрил промывают 10 мл гексана, встряхивая воронку 1-2 минуты . Нижний слой ацетонитрила сливают в концентратор и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до объема 10 мл. В концентратор добавляют 100 мл дистиллированной воды. Содержимое в концентраторе перемешивают и переносят в делительную воронку. Концентратор ополаскивают 30 мл гексана. Гексан также переносят в делительную воронку и

встряхивают ее в течение 1-2 минут. После разделения слоев нижний водный слой сливают в стакан, а гексан собирают в концентратор, пропуская через безводный сульфат натрия. Водный слой возвращают в делительную воронку. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 30 мл гексана. Объединенные гексановые экстракты выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40°С.

Внимание! В случае образования эмульсии в гексане, гексановые фракции объединяют в стакане, переносят в делительную воронку, добавляют туда 0,1 г хлористого натрия и встряхивают содержимое воронки. Отделившуюся воду отбрасывают, а гексан собирают в концентратор, пропустив его через безводный сульфат натрия, и выпаривают досуха. Сухой остаток разводят в 4 мл ацетона и вводят в хроматограф 3 мкл пробы.

Внимание! Анализ проводится в течение одного дня, так как Цинидон-этил разрушается в экстрактах почвенных проб даже при хранении в холодильнике.

2.5.3. Зерно.

Навеску размолотого зерна массой 20 г заливают 75 мл ацетонитрила и гомогенизируют в течение 2 минут. Экстракт отфильтровывают в делительную воронку емкостью 250 мл через бумажный фильтр. Пробу гомогенизируют еще 2 минуты с 50 мл ацетонитрила и отфильтровывают вторую порцию ацетонитрильного экстракта в делительную воронку. Затем навеску в колбе промывают 25 мл ацетонитрила и отфильтровывают его в ту же делительную воронку. Объединенный экстракт очищают 20 мл гексана, встряхивая воронку в течение 1-2 минут. Нижний слой ацетонитрила сливают в стакан, а гексан отбрасывают. Ацетонитрил возвращают в воронку и промывают его еще раз 20 мл гексана. После этого ацетонитрил собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия, и выпаривают досуха.

Сухой остаток в концентраторе разводят в 10 мл ацетонитрила. Добавляют в концентратор 100 мл охлажденной дистиллированной воды (Держать в холодильнике!), перемешивают и отфильтровывают содержимое концентратора в чистую делительную воронку через бумажный фильтр. Затем в воронку приливают 30 мл гексана и встряхивают ее содержимое в течение 1-2 минут. После разделения фаз нижний водный слой сливают в стакан, а гексан собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Водный слой возвращают в делительную воронку и повторяют экстракцию еще 2 раза, используя каждый раз по 30 мл гексана. Объединенные гексановые экстракты выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха. Сухой остаток разводят в 4 мл ацетона и вводят в хроматограф 3 мкл пробы.

2.5.4. Солома.

Навеску измельченной соломы 5 г смачивают 10 мл дистиллированной воды, заливают 100 мл ацетонитрила и гомогенизируют в течение 2 минут. Ацетонитрил сливают в концентратор через бумажный фильтр. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 75 мл ацетонитрила и встряхивая в течение 2 минут. Объединенный экстракт упаривают досуха, затем разводят в 10 мл ацетонитрила и далее проводят анализ по схеме, описанной в п.2.5.3. Перед вводом в хроматограф сухой остаток в концентраторе разводят в 5 мл ацетона и вводят 3 мкл пробы.

2.6.1. Условия хроматографирования.

Хроматограф "Цвет 600" с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов с пределом детектирования по Линдану не выше $4 \cdot 10^{-14}$ г/см^3.

Рабочая шкала электрометра 32×10^{10}. Скорость движения ленты самописца 0,5 см/мин.

Колонка стеклянная, спиральная, длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм. Носитель Инертон Супер, размер частиц 0,12-0,16 мм, неподвижная фаза 3% OV-1.

Температура испарителя - 290°С, термостата колонки 280°С, детектора - 340°С.

Газовый режим: азот - 40 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Цинидон-этила - 5 мин 45 сек.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,15 – 1,5 нг.

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

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/мл, разбавляют.

Объем вводимой пробы - 3 мкл.

Альтернативные условия:

Хроматограф "Кристалл 2000М" с электронно-захватным детектором;

Колонка капиллярная кварцевая DB-1701, длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, жидкая фаза OV-17.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура - 235°С, выдержка 2 минуты; нагрев колонки по 15°С в минуту до температуры 280°С, выдержка 12 минут.

Температура испарителя - 290 °С, детектора - 340 °С.

Регулятор расхода гелия: тип регулятора – РРГ-11; режим – Splitless; минимальный расход гелия – 20 мл/мин; длительность сброса – 5 мин.

Газ 1 – гелий, расход – 0,5 мл/мин, линейная скорость – 30 см/сек, давление на входе 41 кПа.

Газ 2 – гелий (продувка испарителя), сброс 1:100, начало сброса – 10 сек, расход – 50 мл/мин.

Газ 3 – азот (поддув в детектор), расход во время анализа – 45 мл/мин.

Продувка системы после анализа при температуре 280 °С в течение 5 минут: продувка детектора азотом – 75 мл/мин; продувка испарителя гелием – 60 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Цинидон-этила 11 мин 24 сек. Объем вводимой пробы – 1 мкл.

2.6.2. Обработка результатов анализов.

Содержание Цинидон-этила в пробах воды, почвы, зерна и соломы рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{H_0 \cdot m \cdot 100} \cdot P$$

X - содержание Цинидон-этила в пробе, мг/кг;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_0 - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования (мл);

m - масса или объем анализируемого образца, г или мл.

P - содержание Цинидон-этила в аналитическом стандарте.

3. Требования техники безопасности.

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

4. Разработчики.

Калинин В.А., профессор, канд. с-х. наук, Калинина Т.С., ст.н. сотр., канд. с-х. наук, Довгилевич А.В., ст.н.сотр., канд.хим.наук, Довгилевич Е.В., ст.н.сотр., канд. биол.наук,

Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева. Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов»,

127550, Москва, Тимирязевская ул. д. 53, стр. 1,

Телефон/факс: 976-37-68 / 976-43-26.

gost.e-ecolog.ru