УТВЕРЖДАЮ

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

24 июня 2003 г.

МУК 4.1.1434-03

Дата введения: 30 июня 2003 г.

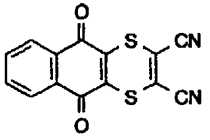
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств дитианона в воде, почве, яблоках, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воде, почве, яблоках, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур массовой концентрации дитианона в диапазонах 0,0025 - 0,025 мг/дм^3; 0,02 – 0,2 мг/кг; 0,02 – 0,2 мг/кг; 0,02 – 0,2 мг/кг; 0,04 – 0,4 мг/кг.

Дитианон - действующее вещество препарата ДЕЛАН, СК (750 г/л), фирма производитель БАСФ, Германия.

5,10-дигидро-5,10-диоксонафто[2,3-*b*]-1,4-дитиин-2,3-дикарбонитрил (IUPAC)



$C_{14}H_4N_2O_2S_2$

Мол. масса 296,3

Твердое вещество темно-коричневого цвета без запаха. Температура плавления 225^{0}С. Давление паров при 25^{0}С: 2,7×10^{-6} мПа. Плотность 1576 кг/м^3. Растворимость в органических растворителях при 20^{0}С (г/дм^3): хлороформ – 12, бензол – 8, ацетон – 10; слабо растворим в метаноле и дихлорметане. Растворимость в воде при 20^{0}С - 0,14 мг/дм^3. Разрушается в щелочной среде, концентрированных кислотах и при продолжительном нагревании; DT_{50} – 12,2 часа (pH 7, 25^{0}С). Быстро разрушается в воде с большим содержанием органических веществ. Период полураспада в воде — приблизительно I день.

gost.e-ecolog.ru

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 678 мг/кг, для мышей – 511 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - 2000 мг/кг, для мышей 3200 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс – более 2086 мг/м^3. Препарат раздражает кожу, особенно слизистые оболочки глаз.

Область применения препарата

Делан - фунгицид широкого спектра действия из класса хинонов, применяется на фруктовых, цитрусовых культурах, винограде, хмеле, кофе, пшенице и декоративных растениях в период после цветения.

Гигиенические нормативы:

ПДК в воде водоемов – 0,005 мг/дм^3.

ОДК в почве – 0,02 мг/кг

МДУ в яблоках, персиках - не допускается.

1. Метрологические характеристики метода

Метрологические характеристики метода представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95, n = 24				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Вода	0,0025*	0,0025 – 0,025	84,2	5,10	±8,6
Почва	0,02**	0,02 – 0,2	91,9	2,21	±3,9
Яблоки	0,02**	0,02 – 0,2	93,8	1,49	±2,8
Зерно пшеницы	0,02**	0,02 – 0,2	89,1	2,89	±5,4
Зеленая масса	0,04**	0,04 – 0,4	88,3	3,87	±7,4

* Предел обнаружения в хроматографируемом объеме 7,5 нг (хроматограф Милихром);

** Предел обнаружения в хроматографируемом объеме – 2 нг (хроматограф «Jasko», Япония).

Таблица 2

Полнота извлечения дитианона из воды, почвы, яблок, зерна и зеленой массы пшеницы (6 повторностей для каждой концентрации)

Среда	Внесено дитианона мг/кг ($дм^3$)	Обнаружено дитианона мг/кг ($дм^3$)	Полнота извлечения, %
1	2	3	4
Вода	0,0025	0,0020 ± 0,0001	80,0
	0,005	0,0044 ± 0,0001	88,0
	0,010	0,0084 ± 0,0002	84,2
	0,025	0,0217 ± 0,0005	86,7
Почва	0,02	0,0176 ± 0,0018	88,9
	0,04	0,0362 ± 0,0027	90,5
	0,1	0,0938 ± 0,0049	93,8
	0,2	0,1890 ± 0,0145	94,5
Яблоки	0,02	0,0184 ± 0,0016	92,0
	0,04	0,0371 ± 0,0024	92,7
	0,1	0,0948 ± 0,0050	94,8
	0,2	0,191 ± 0,0187	95,5
Зерно пшеницы	0,02	0,0167 ± 0,00094	83,5
	0,04	0,0359 ± 0,00166	89,7
	0,1	0,0912 ± 0,00423	91,2
	0,2	0,1840 ± 0,00841	92,0
Зеленая масса	0,04	0,0340 ± 0,0016	85,1
	0,08	0,0693 ± 0,0041	86,6
	0,2	0,1806± 0,0072	90,3
	0,4	0,3648 ± 0,0089	91,2

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после экстракции из анализируемой пробы воды хлороформом, почвы и растительного

материала – ацетоном в кислой среде, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в технологии выращивания зерновых колосовых культур и яблок.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Jasko, Япония)	
Жидкостной хроматограф Милихром (Россия) с ультрафиолетовым детектором	ТУ 25-7405.0009-89
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г	ГОСТ 7328
Колбы мерные вместимостью 50, 100, 250 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 $см^3$	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные вместимостью 5 или 10 $см^3$	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 10, 25, 50, 100, 200, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Дитианон с содержанием действующего вещества 99,2% (Шелл, Великобритания)	
Ацетон, чда	ГОСТ 2603
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ-6-09-4326-76
Вода бидистиллированная, деионизованная или	

перегнанная над $KMnO_4$	
н-Гексан, хч	ТУ-6-09-3375
Кислота хлороводородная (соляная), хч	ГОСТ 6552
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Силикагель для колоночной хроматографии, L 40-100 меш,	
Хемапол, Чехия	
Хлороформ	Фармакопея СССР

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851-78
Бумажные фильтры "красная лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Вата хлопковая	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 200, 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37, 60 и 100-120 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	ГОСТ 15906
Груша резиновая	
Дефлегматор елочный	ГОСТ 20729
Колба Бунзена	ГОСТ 56145
Колбы плоскодонные вместимостью 200 – 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 100 и 500 и 1000 $см^3$	ГОСТ 9737
Колонка стеклянная, внутренним диаметром 15-18 мм, высотой 25 см	
Контактный термометр	ГОСТ 9871
Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236-79
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696

Печь муфельная	
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 50	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	ТУ 25-11-917-74
Сито с диаметром отверстий 1мм	
Стаканы химические, вместимостью 100, 400 и 1000 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Установка для перегонки растворителей	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Холодильник водяной, обратный	ГОСТ 23932
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Altex Ultrasphere ODS, зернением 5 мкм. Предколонка стальная, длиной 4,5 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая силикагель, химически связанный с октадецилсиланом	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 64 см, внутренним диаметром 2,0 мм, содержащая Сепарон С18, зернением 5 мкм	
Шкаф сушильный	ТУ 64-1-1411-76
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50 – 100 $мм^3$	

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами по ГОСТу 12.1005.

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, опыт работы на жидкостном хроматографе.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20\pm5)^0$C и относительной влажности не более 80%.

• выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подвижных фаз для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографических колонок, установление градуировочных характеристик, подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов, проверка хроматографического поведения вещества на колонке с силикагелем.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.2. Очистка ацетона

Растворитель сушат над молекулярными ситами 4А и подвергают фракционной перегонке на ректификационной колонне, целиком собранной из стекла с числом теоретических тарелок не менее 30. Сосуд для перегонки погружают в водяную баню и через приемник пропускают медленно струю сухого азота. Затем температуру водяной бани повышают до 70 - 75^{0}C и прибор промывают парами ацетона, после чего холодильник заполняют водой. До начала отбора главной фракции приемник несколько

раз промывают дистиллятом. Перегонку продолжают до тех пор, пока в сосуде для перегонки не останется приблизительно 100 см^3 ацетона. Температуру водяной бани следует снижать по мере уменьшения объема ацетона, во всех случаях она не должна превышать температуру кипения ацетона более чем на 20^0.

7.1.3. Очистка хлороформа

Хлороформ промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 50.

7.1.4. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты, до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.2. Приготовление элюента для колоночной хроматографии

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 500 - 600 см^3 хлороформа, вносят 1 см^3 ледяной уксусной кислоты, доводят до метки хлороформом, тщательно перемешивают.

7.3. Подготовка подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 575 см^3 ацетонитнила, 2 см^3 уксусной кислоты, добавляют 423 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.4. Подготовка подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 550 см^3 ацетонитрила, 100 см^3 метанола, 2 см^3 уксусной кислоты, добавляют 348 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой № 1 или № 2 (приготовленной по п. 7.3 или п. 7.4.) в течение 30 минут при скорости подачи растворителя 0,1 см^3/мин или 1 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.6. Подготовка смеси растворителей для приготовления стандартных растворов и растворения образцов

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 990 см^3 метанола, добавляют 10 см^3 уксусной кислоты, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.7. Приготовление градуировочных растворов

7.7.1. Исходный раствор дитианона в ацетонитриле для градуировки (концентрация 100 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 0,01 г дитианона, растворяют в 50-70 см^3 ацетонитрила, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

Рабочие градуировочные растворы дитианона готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного стандартного раствора.

7.7.2.Серия А (измерение по п. 9.5.1)

Рабочие градуировочные растворы № 1 - 4 (концентрация 2.5 – 25.0 мкг/см^3).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 2.5, 5.0, 10.0 и 25.0 см^3 исходного стандартного раствора дитианона в ацетонитриле с концентрацией 100 мкг/см^3, доводят до метки подвижной фазой № 1 (приготовленной по п.7.3), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 1 - 4 с концентрацией дитианона 2.5, 5.0, 10.0 и 25.0 мкг/см^3.

Рабочие стандартные растворы хранятся в холодильнике в течение 5-ти дней.

7.7.3. Серия Б (измерение по п. 9.5.2)

7.7.3.1. Раствор № 5 дитианона для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3). В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10 см^3 исходного стандартного раствора дитианона с концентрацией 100 мкг/см^3 (п. 7.7.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки. Раствор хранится в холодильнике в течение 5-ти дней.

7.7.3.2. Рабочие градуировочные растворы № 6 -9 (концентрация 0.1 – 1.0 мкг/см^3). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см^3 стандартного раствора № 1 с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.7.1), доводят до метки смесью метанол-уксусная кислота (приготовленной по п. 7.6), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 6 - 9 с концентрацией дитианона 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/см^3, соответственно. Растворы хранятся в холодильнике в течение 3-х дней.

7.8. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади или высоты пика (отн. единицы, мм) от концентрации дитианона в растворе (мкг/см^3), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки №№ 1 – 4 или 6 - 9.

В инжектор хроматографа вводят по 3 или 20 мм^3 каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.1 или 9.5.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

7.9. Подготовка колонок А и Б с силикагелем для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 15-18 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 15 г силикагеля в 50 см^3 хлороформа (колонка А) или 10 г силикагеля в 20 см^3 хлорофрма (колонка Б). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку (А или Б) промывают 50 см^3 элюента для колоночной хроматографии (приготовленного по п. 7.2) со скоростью 1-2 капли в сек. После этого колонка готова к работе.

7.8. Проверка хроматографического поведения дитианона на колонках с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают 5 см^3 стандартного раствора № 5 с концентрацией дитианона 10 мкг/см^3 (для проверки поведения дитианона на колонке А) или 1 см^3 стандартного раствора № 9 с концентрацией дитианона 1 мкг/см^3 (для проверки поведения дитианона на колонке Б). Упаривают растворитель досуха, остаток растворяют в 1 см^3 элюента для колоночной хроматографии (приготовленного по п. 7.2.) и вносят в подготовленную колонку А или Б, соответственно.

Промывают колонку 50 см^3 элюента (приготовленного по п. 7.2) со скоростью 1-2 капли в сек. Фракционно (по 5 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ № 1 (приготовленной по п. 7.3) или смеси растворителей (приготовленной по п. 7.6) и анализируют на содержание дитианона соответственно по п. 9.5.1 или 9.5.2.

Фракции, содержащие дитианон, объединяют вместе, упаривают досуха, остатки растворяют в 1 см^3 подвижной фазы для ВЭЖХ № 1 (приготовленной по п.

7.3) или смеси растворителей (приготовленной по п. 7.6) и вновь анализируют на содержание дитианона соответственно по п. 9.5.1 или 9.5.2.

Рассчитывают содержание вещества в элюатах, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Проверку хроматографического поведения дитианона следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. 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 г.).

Пробы воды необходимо анализировать в день отбора.

Образцы почвы и растительной продукции можно хранить в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4^0C не более суток вне зависимости от сроков хранения продукции.

Для длительного хранения образцы замораживают (лучше жидким азотом) и хранят в морозильной камере при -10^0C в течение месяца, предварительно определяется содержание влаги.

Непосредственно перед анализом образцы зерна, яблок, зеленой массы измельчают, воду (при наличии взвеси) фильтруют через неплотный бумажный фильтр, сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

500 см^3 (G) анализируемого образца воды помещают в делительную воронку вместимостью 1000 см^3, добавляют 50 см^3 концентрированной соляной кислоты и 100 см^3 хлороформа, интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой собирают в коническую колбу вместимостью 250 см^3. Оставшуюся в делительной воронке водную фазу подвергают экстракции новыми порциями хлороформа объемом 50 см^3 еще дважды.

Объединенный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия, переносят в круглодонную колбу, содержащую 0,1 см^3 уксусной кислоты и упаривают досуха на

ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 45^{0}С. Далее проводят очистку согласно п. 9.4.2.

9.2. Почва, яблоки, зеленая масса

Навеску почвы, гомогенизированной пробы яблок массой 50 г (G), зеленой массы массой 25 г (G) смешивают в стакане со 100 см^3 ацетона и 5 см^3 соляной кислоты. Смесь тщательно перемешивают и помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин. Смесь фильтруют, остаток на фильтре промывают 10 см^3 ацетона. Процедуру экстракции и промывки повторяют еще раз со 110 см^3 ацетона. Экстракты и промывки переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3 (Vex1) и доводят ацетоном до метки. Далее проводят очистку согласно п. 9.4.1.

ПРИМЕЧАНИЕ: В отдельных случаях (например, яблоки) процесс экстракции может быть улучшен при добавлении 50 см^3 соляной кислоты вместо 5 см^3. В этом случае проводят повторную экстракцию с использованием 80 см^3 ацетона.

В зависимости от типа и состава растительного материала может быть сделано следующее упрощение: 100 см^3 ацетонового раствора экстрагируют 1 раз 150 см^3 хлороформа. Хлороформную фазу осушают и упаривают на ротационном вакуумном испарителе почти досуха. В этом случае далее очистку проводят согласно п. 9.4.2.

9.3. Семена зерновых культур

Навеску 50 г (G) измельченного зерна смешивают в стакане со 110 см^3 хлорофорам и 5 см^3 соляной кислоты. Смесь перемешивают в течение 10 мин, охлаждают до 0^{0}С и затем фильтруют через бумажный фильтр. Остаток на фильтре промывают 20 см^3 хлороформа. Процедуру экстракции и промывки повторяют со 130 см^3 хлороформ. Объединенные экстракты и промывки встряхивают в делительной воронке вместимостью 500 см^3 со 100 см^3 воды, содержащей 5 см^3 соляной кислоты. Нижнюю органическую фазу фильтруют через сульфат натрия, осушитель промывают 20 см^3 хлороформа. Объединив экстракт и промывку, упаривают их на ротационном вакуумном испарителе почти досуха. Очистку проводят согласно п. 9.4.2.

9.4. Очистка экстракта

9.4.1. Перераспределение в н-гексане и хлороформе

100 см^3 раствора ацетона (Vr1), полученного по п. 9.2, переносят в делительную воронку на 500 см^3, добавляют 200 см^3 воды, 100 см^3 насыщенного раствора

хлористого натрия и 100 см^3 гексана, смесь встряхивают и отделяют верхнюю гексановую фазу. Затем водную фазу встряхивают со 100 см^3 хлороформа и нижнюю (органическую) фазу объединяют с гексановым экстрактом.

Объединенный экстракт, осушенный безводным сульфатом натрия, упаривают на ротационном вакуумном испарителе почти досуха. Далее продолжают очистку согласно п. 9.4.2.

9.4.2. Очистка на колонке с силикагелем

Остатки в колбах, полученные по п. 9.1, 9.3 и 9.4.1, с помощью 5 см^3 смеси хлороформ-уксусная кислота, 999:1 (элюента для колоночной хроматграфии, приготовленного по п. 7.2) количественно переносят на колонку А с силикагелем (остаток по п. 9.1) или колонку Б (остатки по п.9.3. и 9.4.1). Колонку А промывают 40 см^3, колонку Б - 70 см^3 элюента (приготовленного по п. 7.2). Первые 20 см^3 основного элюата отбрасывают, оставшееся количество (колонка А - 20 см^3, колонка Б - 50 см^3) собирают в грушевидную колбу вместимостью 100 см^3, предварительно добавив в нее 0,1 см^3 уксусной кислоты. Элюат упаривают почти досуха, остаток растворителя отдувают в слабом токе азота (или воздуха). Сухой остаток экстракта воды растворяют в 0,5 см^3 ацетонитрила; почвы, яблок, зерна и зеленой массы - в 4 см^3 (Vend) смеси метанол-уксусная кислота 99:1 (по объему) и анализируют на содержание дитианона соответственно по п. 9.5.1 или 9.5.2.

9.5. Условия хроматографирования

9.5.1. Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором Милихром (Россия)

Колонка стальная, длиной 64 мм, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Сепарон С18, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-уксусная кислота (575:423:2, по объему)

Скорость потока элюента: 0,1 см^3/мин

Рабочая длина волны: 254 нм

Чувствительность: 0,2 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 3 мм^3

Ориентировочный удерживаемый объем дитианона 630 мм^3

Линейный диапазон детектирования: 7,5 - 75 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем стандартный раствор с концентрацией

25 мкг/см^3, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ N 1.

9.5.2. Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором фирмы Jasko (Япония)

Предколонка стальная длиной 4,5 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Altex Ultrasphere ODS, зернением 5 мкм

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Altex Ultrasphere ODS, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил-метанол—вода-уксусная кислота (560:100:348:2, по объему)

Скорость потока элюента: 1,0 см^3/мин

Рабочая длина волны: 254 нм

Чувствительность: 0,001 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 мм^3

Ориентировочное время выхода дитианона: 10 мин

Линейный диапазон детектирования 2 - 20 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем стандартный раствор дитианона с концентрацией 1,0 мкг/см^3, разбавляют смесью растворителей (приготовленной по п. 7.6).

10. Обработка результатов анализа

Содержание дитианона рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

а). почва, яблоки, зеленая масса растений

$$X = \frac{C * Vex1 * Vend}{Vr1 * G}$$

б). вода, зерно

$$X = \frac{C * Vend}{G}$$

где: X - содержание дитианона в пробе, мг/кг; мг/дм^3;

C - концентрация дитианона в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику, мкг/см^3;

Vex1 - общий объем экстракта по п. 9.2, см^3;

Vrl - аликвотная часть экстракта, взятая на анализ по п 9.4.1, $см^3$;

Vend - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, $см^3$;

G - масса (или объем) анализируемого образца, г ($см^3$).

11. 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.

12. Разработчики.

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Ларькина М.В. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана Минздрава РФ) - вода;

Тутельян В.А., Хотимченко С.А., Бессонов В.В. Институт питания РАМН, г. Москва - почва, яблоки, зерно, зеленая масса.

gost.e-ecolog.ru