УТВЕРЖДАЮ

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

24 июня 2003 г.

МУК 4.1. 1473-03

Дата введения: 30 июня 2003 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств десмедифама и фенмедифама в корнеплодах и ботве сахарной, столовой и кормовой свеклы методом капиллярной газожидкостной хроматографии

1. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

Название препарата: Битал АМ, Синбетан Прогресс ОФ. Бифор Прогресс.

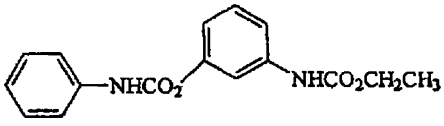
Фирма производитель: ФМРус, РосАгроХим, АгроЭксперт групп.

Действующие вещества: десмедифам и фенмедифам.

1. Десмедифам (ISO).

3-этоксикарбониламинофенил фенилкарбамат (IUPAC).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{16}N_2O_4$.

Молекулярная масса: 300,3.

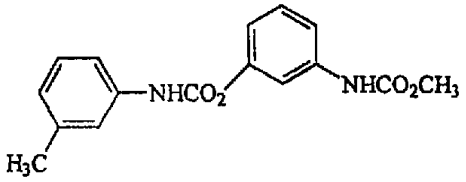
Химически чистое вещество: бесцветные кристаллы. Температура плавления: 120°С.

Растворимость (г/1000мл) при 20°С: в воде – 0,007, ацетоне – 400, метаноле – 180, этилацетате – 149, хлороформе – 80, дихлорметане – 17,8, бензоле – 1,6, гексане – 0,5.

2. Фенмедифам (ISO).

3-метоксикарбониламинофенил 3'метилкар-банилат (IUPAC).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{16}N_2O_4$.

Молекулярная масса: 300,3.

Химически чистое вещество: бесцветные кристаллы. Температура плавления: 140 144°С.

gost.e-ecolog.ru

Растворимость (г/1000мл) при 20^{0}С: в воде – 0,006, ацетоне – 200, метаноле – 50 , этилацетате – 56,3 , хлороформе – 20, дихлорметане - 16,7, бензоле – 2,5 , гексане – 0,5.

Гигиенические нормативы: ВМДУ десмедифама в свекле сахарной, столовой и кормовой – 0,1 мг/кг; МДУ фенмедифама в свекле сахарной, столовой и кормовой 0.2 мг/кг.

Область применения препарата: послевсходовый гербицид для борьбы с однолетними двудольными и некоторыми злаковыми сорными растениями на свекле.

2. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕСМЕДИФАМА И ФЕНМЕДИФАМА В КОРНЕПЛОДАХ И БОТВЕ САХАРНОЙ, СТОЛОВОЙ И КОРМОВОЙ СВЕКЛЫ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении остаточных количеств десмедифама и фенмедифама из анализируемого объекта ацетоном, проведении очистки экстракта перераспределением в системе растворителей, получении производных путем гидролитического расщепления десмедифама в анилин, а фенмедифама в метиланилин, их бромировании и газохроматографическом анализе с использованием капиллярной колонки и детектора электронного захвата (ДЭЗ).

2.1.2. Избирательность метода.

Метод специфичен в присутствии других применяемых пестицидов. Проведение очистки экстрактов, а также использование селективного детектора и капиллярной колонки позволяет устранять влияние на анализ коэкстрактивных веществ.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода.

Метрологические параметры метода представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Метрологические параметры, p=0,95, n=6					
Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Корнеплоды	0,02	0,02 - 0,16	82,7	6,1	± 5,6
Ботва	0,02	0,02 - 0,16	85,3	4,7	± 4,3

Таблица 2.

Полнота определения десмедифама и фенмедифама в корнеплодах и ботве свеклы (n = 6 для каждой концентрации).

Анализируемый объект	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, ±	Полнота определения, %
Корнеплоды свеклы	0,020	0,015	0,0015 (7,3%)	77,0
	0,040	0,032	0,0026 (6,4%)	80,8
	0,080	0,068	0,0045 (5,6%)	85,0
	0,160	0,141	0,0082 (5,1%)	88,2
Ботва свеклы	0,020	0,016	0,0011 (5,4%)	80,7
	0,040	0,033	0,0019 (4,9%)	83,3
	0,080	0,069	0,0036 (4,5%)	86,7
	0,160	0,145	0,0064 (4,0%)	90,5

2.2. Реактивы, материалы

Аналитические стандарты десмедифама и фенмедифама.

Азот газообразный высокой чистоты, ТУ 301-07-25-89.

Ацетон, осч, ТУ 2633-004-11291058-94.

Вода дистиллированная и перегнанная над $KMnO_4$ и щелочью.

Калий бромистый, ч, ГОСТ 4160-74.

Калий бромноватокислый, ч, ГОСТ 4457-74.

Калия гидроокись, чда, ГОСТ 24363-80.

Кислота серная, хч, ГОСТ 4204-77.

Натрий сернистокислый (сульфит), чда, ГОСТ 195-77.

Натрий сернокислый б/в (сульфат), чда, ГОСТ 4166-76.

Натрий хлористый, чда, ГОСТ 4233-77.

Этиленгликоль, чда, ГОСТ 10164-75.

Эфир этиловый (серный), ГОСТ ФС 42-3643-98.

Фильтры бумажные, красная лента, ТУ 2642-001-42624157-98.

Фильтры бумажные, белая лента, ТУ 2642-001-42624157-98.

2.3. Приборы, аппаратура, посуда.

Газовый хроматограф с ДЭЗ и хроматографической колонкой капиллярной кварцевой длиной 15 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой SE-52, толщиной слоя 0,4 мкм.

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

Весы аналитические типа ВЛА-200, ГОСТ 34104-80.

Весы лабораторные типа ВЛКТ-500, ГОСТ 24104-80.

Воронки делительные емкостью 500 мл, ГОСТ 25336-82.

Воронки для фильтрования стеклянные, ГОСТ 25336-82.

Инструментарий для первичной подготовки **проб** к определению (**нож, ножницы,** шпатели, кюветы и др.).

Колбы-концентраторы емкостью 100, 250 мл, ГОСТ 25336-82.

Колбы плоскодонные емкостью 300 мл, ГОСТ 25336-82.

Колбы мерные со шлифом емкостью 25, 100 мл, ГОСТ 1770-74.

Микрошприц МШ-10, ТУ 2-833-106.

Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.

Приспособление для обжима колпачков на флаконах, ТУ 42-2-2442-73.

Ротационный вакуумный испаритель типа ИР-1 или аналогичный.

Пипетки мерные емкостью 1, 2, 5 и 10 мл, ГОСТ 20292-74.

Стаканы химические емкостью 500 мл, ГОСТ 25336-82.

Установка для перегонки растворителей при атмосферном давлении.

Установка для упаривания растворителей в токе азота.

Установка ультразвуковая "Серьга" УЗМ002 или аналогичная.

Флаконы стеклянные (типа пенициллиновых) емкостью 20,0 мл.

Шкаф сушильный, ТУ 64-1-1411-76.

Электроплитка, ГОСТ 14919-83.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Очистка органических растворителей и воды.

Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 мл растворителя упаривают в ротационном испарителе при температуре 40^0С до объема 1,0 мл и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с общепринятыми методиками.

В обязательном порядке проводят дополнительную очистку воды, используемой при обработке проб к проведению определения. Для этого 150 мл (из расчета обработки 1 пробы) дистилированной воды, перегнанной над $KMnO_4$ и щелочью, помещают в делительную воронку емкостью 500 мл. В воронку вносят 50 мл насыщенного водного

раствора хлористого натрия, 1,0 мл 10% водного раствора гидроокиси калия и после перемешивания 50мл этилового эфира. Содержимое воронки встряхивают в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний водно-солевой слой сливают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, а верхний эфирный слой отбрасывают. К водно-солевой фракции, находящейся в колбе, добавляют (до pH 3-4) ~ 1,5 мл 5% водного раствора серной кислоты. Содержимое колбы перемешивают встряхиванием, переносят в делительную воронку емкостью 500 мл и добавляют 50 мл этилового эфира. Содержимое воронки встряхивают в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний водно-солевой слой сливают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, а верхний эфирный слой отбрасывают. Очищенный водно-солевой раствор используют при обработке пробы к проведению *определения по* п. 2.6.

2.4.2. Приготовление щелочного этиленгликоля.

В мерной колбе емкостью 25 мл растворяют 1,0 г гидроокиси калия в 1,0 мл дистиллированной воды и доводят объем до 25 мл этиленгликолем.

2.4.3. Приготовление стандартных растворов десмедифама и фенмедифама.

Основные растворы десмедифама и фенмедифама с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением в ацетоне 0,01 г каждого препарата в мерных колбах на 100 мл. Растворы хранят в холодильнике при 4-6^{0}С не более 3-х месяцев.

Смеси рабочих стандартных растворов десмедифама и фенмедифама с концентрациями 4,0, 2,0, 1,0 и 0,5 мкг/мл готовят во флаконах емкостью 20 мл (типа пенициллиновых) из основных стандартных растворов соответствующим последовательным разбавлением ацетоном. Ацетон упаривают в токе азота досуха и проводят гидролиз стандартных веществ с получением их бромпроизводных по п. 2.6.2.

Экстракты, приготовленные по п. 2.6.2 для построения калибровочного графика, хранят в холодильнике при 4-6^{0}С не более месяца.

2.4.4. Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 1 мкл приготовленных по пп. 2.4.3. и 2.6.2. экстрактов, содержащих смеси стандартных растворов десмедифама и фенмедифама (в виде бромпроизводных) с концентрациями 0,5, 1,0, 2,0 и 4,0 мкг/мл. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений и находят среднее значение высоты (площади) хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты (площади) хроматографического пика в мм (мм^2) от концентрации десмедифама и фенмедифама в растворе в мкг/мл.

2.5. Отбор и хранение проб

Отбор проб для анализа проводят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными 21.08.1979г., № 2051-79.

Для длительного хранения пробы помещают в морозильную камеру с температурой -18^0С.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Экстракция десмедифама и фенмедифама

Аналитическую пробу корнеплодов или ботвы массой 25,0±0,1 г помещают в плоскодонную колбу емкостью 300 мл, добавляют 150 мл ацетона, слегка встряхивают и подвергают обработке ультразвуком в УЗ-бане два раза по 5 мин. Ацетоновый экстракт фильтруют через бумажный фильтр красная лента в колбу-концентратор емкостью 250 мл. Внутренние стенки колбы с пробой ополаскивают 20 мл ацетона и экстрагент фильтруют в колбу-концентратор.

При использовании аппарата для встряхивания в плоскодонную колбу с аналитической пробой массой 25,0±0,1 г вносят 150 мл ацетона и содержимое колбы встряхивают в течение 60 мин. После этого экстракт фильтруют через бумажный фильтр красная лента в колбу-концентратор емкостью 250 мл. Внутренние стенки колбы с пробой ополаскивают 20 мл ацетона и экстрагент фильтруют в колбу-концентратор.

Колбу-концентратор с объединенным экстрактом устанавливают в ротационный вакуумный испаритель и упаривают ацетон при температуре 40^0С до объема экстракта 20-30 мл. К остатку экстракта в колбе добавляют 200 мл водно-солевого раствора, приготовленного по п. 2.4.1. Содержимое колбы-концентратора фильтруют через бумажный фильтр белая лента в делительную воронку емкостью 500 мл. Затем в делительную воронку вносят 50 мл этилового эфира, содержимое воронки встряхивают в течение 2-х минут и после разделения слоев нижний водно-солевой слой сливают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, а верхний эфирный слой в колбу-концентратор емкостью 100 мл. Процедуру экстрагирования десмедифама и фенмедифама из водно-солевого раствора повторяют с использованием 25 мл этилового эфира.

Колбу-концентратор с объединенным эфирным экстрактом устанавливают в ротационный испаритель и упаривают этиловый эфир при температуре 40^{0}С до объема экстракта 10-15 мл. Остаток экстракта количественно переносят во флакон (типа пенициллинового) емкостью 20 мл и упаривают этиловый эфир в токе азота.

2.6.2. Проведение гидролиза и бромирования производных десмедифама и фенмедифама.

К остатку во флаконе прибавляют 1 мл щелочного этиленгликоля, приготовленного по п. 2.4.2., флакон герметизируют и термостатируют при 150^{0}С в течение 30 мин. После охлаждения во флакон последовательно добавляют 10 мл 1н водного раствора серной кислоты, 0,25 мл 20% раствора (в 1н водном растворе серной кислоты) бромистого калия и 0.25 мл 1% водного раствора бромноватокислого калия (хранят в темноте). Содержимое флакона перемешивают, флакон закрывают пробкой и выдерживают в темноте 15 мин. После этого во флакон последовательно добавляют небольшое количество ("на кончике шпателя") порошкообразного сульфита натрия до обесцвечивания содержимого, 1,0 мл 50% водного раствора гидроокси калия и после перемешивания - 2,5 мл толуола. Флакон закрывают пробкой, интенсивно встряхивают в руке и оставляют в покое на 10-15 минут до разделения слоев содержимого флакона. Аликвотную часть верхнего толуольного слоя хроматографируют по п. 2.7.

В том случае, если через 10-15 минут верхний толуольный слой остается мутным, аликвотную его часть (1,5-2,0 мл) пропускают через слой (толщина 0,3-0,5 см) безводного сульфата натрия и затем анализируют на содержание десмедифама и фенмедифама по п.2.7.

2.7. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с ДЭЗ.

Колонка хроматографическая капиллярная длиной 15 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой SE -52 толщиной слоя 0,4 мкм.

Температура колонки с программированием от 80^{0}С (3 мин) до 280^{0}С (15 мин) со скоростью 10^{0}С/мин.

Температура испарителя: 250^{0}С.

Температура детектора: 300^{0}С.

Расход газов: газа-носителя (азот в/ч) - 2,0 см^3/мин, дополнительного газа (азот в/ч) к ДЭЗ - 40 см^3/мин.

Объем хроматографируемой пробы: 1 мкл.

Время удерживания: десмедифама (в виде бромпроизводного) - 14,3±0,1мин. фенмедифама (в виде бромпроизводного) - 15,9±0,1мин.

Линейный диапазон детектирования (по бромпроизводным): 0,25-8,0 нг.

2.8. Обработка результатов анализа.

Содержание десмедифама или фенмедифама рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}$$, где:

X – содержание десмедифама или фенмедифама в пробе, мг/кг,

H_1 – высота (площадь) пика анализируемого вещества, мм (мм^2),

H_0 – высота (площадь) пика стандартного вещества, мм (мм^2),

A – концентрация смеси стандартных растворов десмедифама и фенмедифама, мкг/мл,

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл,

m – масса (г) аналитической пробы.

3. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ.

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

4. ТРЕБОВАНИЯ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ.

Необходимо соблюдать общепринятые правила техники безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами, а также требования, изложенные в документации к приборам.

5. РАЗРАБОТЧИКИ.

П.А. Тарарин, Т.А. Маханькова, Л.В. Григорьева (ВНИИ защиты растений).

gost.e-ecolog.ru