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 2
Часть 5
МУК 4.1.1229—4.1.1233—03

Издание официальное

Москва • 2006

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
16 марта 2003 года
Дата введения: 1 июля 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств тетраконазола в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых культур методом газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1229—03

1. Вводная часть

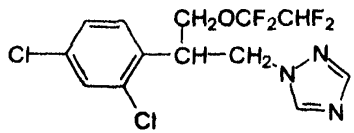
Торговое наименование: Эминент.

Фирма производитель: Томен Корпорейшн (Япония).

Действующее вещество: тетраконазол.

(RS)-2-(2,4-дихлорфенил)-3-(1H-1,2,4-триазол-1-ил) пропил-1,1,2,2-тетрафторэтиловый эфир.

Структурная формула:



Молекулярная масса: 372,1.

Эмпирическая формула: $C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$.

Химически чистый тетраконазол представляет собой бесцветную вязкую жидкость, разлагается при 240 °С; давление паров 0,18 мРа, показатель преломления 1,432 (20 °С).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} lgP = = 3/56 (20 °С).

Растворимость: в воде 156 мг/л (pH 7; 20 °С); хорошо растворим в 1,2-дихлорэтане, ацетоне, метаноле.

Стабилен в разбавленных водных растворах с pH 5—9.

Область применения: фунгицид широкого спектра действия.
Гигиенические нормативы:
ОДК в почве – 0,4 мг/кг;
ПДК в воде водоемов – 0,01 мг/дм^3;
МДУ в зерне хлебных злаков – 0,2 мг/кг.

2. Методика определения остаточных количеств тетраконазола в воде, почве, зерне и соломе зерновых культур методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении тетраконазола методом газожидкостной хроматографии с использованием электронозахватного детектора (ДЭЗ или ДПР) после его извлечения из образцов органическим растворителем, очистке путем перераспределения между двумя жидкими фазами и колоночной хроматографии на флорисиле. Идентификация тетраконазола проводится по времени удерживания, количественное определение – методом абсолютной градуировки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1.

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, %	Доверительный интервал среднего, $n = 24$, $P = 0,95$
Вода	0,0005	0,0005—0,01	90,8	0,99	2,0
Почва	0,001	0,001—0,02	80,3	2,19	4,4
Зеленая масса	0,005	0,005—0,5	83,1	1,75	3,6
Солома	0,005	0,005—0,1	84,2	2,76	5,6
Зерно	0,0025	0,0025—0,05	86,0	2,53	5,1

2.1.3. Избирательность метода

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

2.2. Реактивы и материалы

Тетраконазол, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,38 %	
Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—82
н-Гексан, ч, свежеперегнанный	ТУ 6-09-3375—78
Дихлорметан, хч	ТУ 6-09-3716—80
Этилацетат, чда	ГОСТ 22300—76
Метанол, хч	ГОСТ 6995—77
Натрий серно-кислый безводный, чда, свежепрокаленный	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Насадки для колонок: 5 % SE-30 на хроматоне N-Super (0,125—0,160 мм), имп.	
5 % XE-60 на хроматоне N-Super (0,16—0,20 мм), имп.	
Флорисил для хроматографии (0,150—0,250 мм) Merck, имп.	
Бумага фильтровальная	ТУ 6.091678—86
Азот особой чистоты (в баллоне с редуктором)	ГОСТ 9293—74

2.3. Приборы и посуда

Газовый хроматограф Цвет-550 М или аналогичный с детектором постоянной скорости рекомбинации (ДПР или ДЭЗ) и стеклянной насадочной колонкой, длиной 1 или 2 м; внутренним диаметром 3 мм	
Весы аналитические ВЛА-200 или аналогичные	ГОСТ 34104—80Е
Весы технические ВЛКТ-500	ГОСТ 24104—80
Установка ультразвуковая «Серьга»	ТУ 3.836.008
Мельница ножевая РМ-120 или лабораторная зерновая ЛМЗ	ТУ 1-01-0593—79
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М или аналогичный	ТУ 25-11-917—74
Микрошприц МШ-10, МШ-10М	ТУ 2-833-106
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-3-500	ГОСТ 8613—75
Цилиндры мерные на 100 $см^3$	ГОСТ 1774—74
Колбы мерные на 25, 50, 100 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$	ГОСТ 22292—74
Пробирки с притёртыми пробками на 10, 20 $см^3$	ГОСТ 1770—74

Колонка стеклянная хроматографическая длиной 25 см, диаметром 1 см.

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). Отобранные пробы зеленых растений хранят в полиэтиленовой таре в холодильнике при 0—4 °С в течение недели, в морозильной камере при –18 °С в течение 6 месяцев. 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. Кондиционирование колонки

Готовую насадку (5 % SE-30 или XE-60 на хроматоне N-Super) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и кондиционируют в токе азота при температуре 250 °С в течение 8—10 часов.

2.5.2. Приготовление стандартного и градуировочных растворов

Берут точную навеску тетраконазола и растворяют в ацетоне таким образом, чтобы получить стандартный раствор с концентрацией 1 мг/мл. Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 6 месяцев.

Градуировочные растворы в гексане с концентрациями 0,001, 0,0005, 0,0002, 0,0001 и 0,00005 мг/мл готовят из стандартного раствора методом последовательного разбавления по объему. Градуировочные растворы хранятся в холодильнике в течение 1 месяца.

2.5.3. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика в хроматограф вводят по 1 мкл каждого из градуировочных растворов (3 параллельных определения для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют высоты или площади пиков и строят график зависимости среднего значения высоты или площади пика от концентрации тетраконазола в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.6. Проведение определения

2.6.1. Определение тетраконазола в воде

В делительную воронку емкостью 250 мл помещают пробу воды объемом 100 мл, добавляют 1—2 г хлористого натрия и экстрагируют тетраконазол 50 мл дихлорметана дважды, встряхивая воронку каждый раз не менее 3-х мин. После полного разделения слоев отделяют нижний органический слой, пропуская его через безводный серно-кислый натрий (не менее 30 г), предварительно промытый дихлорметаном. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 35 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл смеси гексан–ацетон (9 : 1) и проводят очистку экстракта на колонке с флорисилом.

Колонку готовят следующим образом: в нижнюю часть колонки помещают тампон из обезжиренной ваты, к 8 г флорисила добавляют 15 мл смеси гексан–ацетон (9 : 1) и заполняют колонку этой суспензией. После осаждения флорисила (уровень растворителя над столбиком флорисила 15—20 мм) в колонку добавляют безводный сульфат натрия слоем 10 мм. Перед внесением пробы колонку промывают 20 мл той же смеси гексан–ацетон и понижают уровень растворителя до верхнего слоя сорбента. Экстракт количественно переносят в колонку, обмывая дважды колбу 1—2 мл смеси гексан–ацетон. Элюируют тетраконазол той же смесью гексан–ацетон (9 : 1), отбрасывая первую фракцию 20 мл и собирая последующие 50 мл.

Растворитель выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют 1 мл этилацетата и вводят в хроматограф 1 или 2 мкл полученного раствора.

2.6.2. Определение тетраконазола в почве

Образец сухой почвы массой 50 г помещают в коническую колбу с притертой пробкой, добавляют 15 мл дистиллированной воды, встряхивают и оставляют на сутки. На следующий день в колбу добавляют 100 мл смеси метиловый спирт–вода (9 : 1 по объему) и экстрагируют

тетраконазол на ультразвуковой бане в течение 30 мин. Затем фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбу емкостью 500 мл. Экстракцию повторяют еще 2 раза по 5 мин, используя по 50 мл той же смеси. (При анализе почв с содержанием гумуса более 2,5 % количество экстракций увеличивают.) Колбу ополаскивают 20 мл смеси и добавляют к объединенному водно-спиртовому экстракту. Метиловый спирт отгоняют на ротационном испарителе при температуре не выше 35 °С. К остатку добавляют дистиллированную воду до объема 100 мл, вносят 1—2 г хлористого натрия и переносят водный экстракт в делительную воронку.

Далее подготовку пробы к газохроматографическому анализу проводят так же, как для водных образцов (см. п. 2.6.1). При элюировании тетраконазола из колонки с флорисилом первую фракцию 30 мл отбрасывают, последующие 70 мл собирают. После выпаривания растворителя досуха сухой остаток растворяют в 1мл этилацетата и 1—2 мкл раствора вводят в хроматограф.

2.6.3. Определение тетраконазола в зеленой массе, соломе и зерне зерновых культур

Навеску зеленых растений или соломы 10 г измельчают (или мелко нарезают), зерна – 10 г измельчают с помощью лабораторной мельницы, помещают в коническую колбу и заливают 50—100 мл раствора ацетон–вода (50 : 50) таким образом, чтобы проба была полностью покрыта раствором, и экстрагируют тетраконазол на ультразвуковой установке в течение 15 мин (или оставляют на ночь). Водно-ацетоновый экстракт фильтруют через бумажный фильтр. Остаток на фильтре промывают дважды водным ацетоном порциями по 25 мл. Объединённый фильтрат помещают в делительную воронку и производят очистку переэкстракцией в н-гексан, добавляя хлористый натрий из расчета 1 г на 50 мл раствора. Тетраконазол экстрагируют н-гексаном трижды порциями по 25—30 мл. Объединенные гексановые экстракты фильтруют через бумажный фильтр и сушат над безводным сульфатом натрия. Полученный экстракт упаривают на ротационном испарителе или под вакуумом на водяной бане при температуре 40 °С досуха. Остаток растворяют в 1—10 мл гексана.

При определении остатков в урожае, когда измерение концентрации проводят на высоких шкалах чувствительности хроматографа, может потребоваться дополнительная очистка экстракта. В этом случае проводят очистку на колонке с флорисилом так же, как в п. 2.6.1.

Вводят в хроматограф 1 мкл очищенного экстракта.

2.6.4. Условия хроматографирования

Параметры	ДПР, колонка 5 % SE-30	ДПР, колонка 5 % XE-60
Шкала усилителя	$20—40 \times 10^{10}$	$20—40 \times 10^{10}$
Температура колонки, °С	230	220
Температура испарителя, °С	250	240
Температура детектора, °С	300	300
Дозируемый объем, мкл	1—2	1—2
Скорость газа-носителя, $см^3$/мин	40	40
Время удерживания	1 мин 55 с	2 мин 10 с
Линейный диапазон детектирования, нг	0,025—1	0,025—1

2.6.5. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводили методом абсолютной градуировки, содержание тетраконазола в образце воды, почвы или растений (X, мг/кг) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot C \cdot V}{H_1 \cdot P \cdot K}, \text{ где}$$

H_1 – высота (площадь) пика тетраконазола в стандартном растворе, мм;

H_2 – высота (площадь) пика тетраконазола в анализируемой пробе, мм;

V – объём пробы, подготовленной для хроматографического анализа, мл;

P – навеска анализируемого образца, г;

C – концентрация стандартного раствора тетраконазола, мкг/мл;

K – коэффициент извлечения тетраконазола, определяемый в предварительном опыте по внесению тетраконазола в контрольный образец.

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

3. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования инструкции «Основные правила безопасной работы в химической лаборатории», общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, а также инструкций по эксплуатации газового хроматографа и электрооборудования до 400 В.

4. 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».

5. Разработчики

Блинова Т. Ф., Цибульская И. А., Долженко В. И. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений.

gost.e-ecolog.ru