Государственная система санитарно-эпидемиологического нормирования
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

**Сборник методических указаний
МУК 4.1.1437—4.1.1448—03, МУК 4.1.1453—4.1.1460—03,
МУК 4.1.1467—03**

Выпуск 4

Издание официальное

Москва • 2007

gost.e-ecolog.ru

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний
МУК 4.1.1437—4.1.1448—03, МУК 4.1.1453—4.1.1460—03,
МУК 4.1.1467—03

Выпуск 4

ББК 51.21
О 37

О 37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний. Вып. 4—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.—254 с.

Настоящий сборник содержит копии оригиналов методических указаний по определению остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды.

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В.Н. Ракитский, проф. Т.В. Юдина); Российским государственным аграрным университетом – МСХА им. К.А. Тимирязева (проф. В.А. Калинин, к.х.н. А.В. Довгилевич); при участии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (А.П.Веселов). Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Методические указания рекомендовваны к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, академиком РАМН Г.Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ.л.16,0

Тираж 150 экз.

Тиражировано отделом информационно-издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора

© Роспотребнадзор, 2007
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007

Содержание

Определение остаточных количеств тритосульфурона в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зерне и зеленой массе кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1437—03 4

Определение остаточных количеств трифлуралина в зеленой массе и зерне зерновых культур, в семенах и масле подсолнечника, сои и рапса методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1438—03 20

Определение остаточных количеств фенпироксимата и его метаболитов в воде, почве, винограде и яблоках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1439—03 30

Измерение концентрации фенпироксимата в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1440—03 43

Измерение концентраций флуметсулама и флорасулама в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1441—03 50

Определение остаточных количеств флуметсулама и флорасулама в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1442—03 59

Определение остаточных количеств флуазифоп-П-бутил по флуазифоп-П в воде, зеленой массе растений, клубнях картофеля, зерне гороха, семенах и масле сои, подсолнечника, рапса, льна методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1443—03 77

Определение остаточных количеств флутриафола в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, винограде и яблоках методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1444—03 99

Определение остаточных количеств хлороталонила в зерне и соломе зерновых колосовых культур, винограде, яблоках, хлороталонила и его метаболита – SDS 3701 (R 182281) методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1445—03 113

Определение остаточных количеств эсфенвалерата в воде водоемов, почве, яблоках, клубнях картофеля, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1446—03 128

Измерение концентраций карбосульфана в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1447—03 139

Определение остаточных количеств диниконазола в семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1448—03 146

Измерение концентраций дикамбы в воздухе рабочей зоны газожидкостной и тонкослойной хроматографией: МУК 4.1.1453—03 153

Определению остаточных количеств имазамокса в воде, почве, зерне и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1454—03 164

Определение остаточных количеств клефоксидима в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1455—03 176

Определение остаточных количеств кломазона в воде, почве, зерне, соломе риса, семенах и масле сои хроматографическими методами: МУК 4.1.1456—03 187

Определение остаточных количеств крезоксим-метила в воде, почве, яблоках и его метаболита крезоксима в воде и почве газохроматографическим методом: МУК 4.1.1457—03 203

Определение остаточных количеств метазахлора в семенах и масле горчицы и рапса газохроматографическим методом: МУК 4.1.1458—03 215

Определение остатков пирипроксифена в воде, почве и яблоках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1459—03 223

Определение остаточных количеств тепралоксидима в воде, почве, сахарной свекле и сое методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1460—03 233

Определение остаточных количеств бромуконазола в воде, почве, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур, ягодах черной смородины и винограда методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1467—03 245

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель министра здравоохранения
Российской Федерации
Г.Г.ОНИЩЕНКО
24 июня 2003 г.

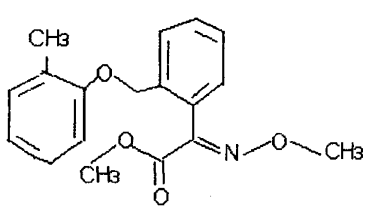
МУК 4.1. 1457-03

Дата введения: 30 июня 2003 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по определению остаточных количеств крезоксим-метила в воде, почве, яблоках и его метаболита крезоксима в воде и почве газохроматографическим методом

1. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

Фирма - производитель: БАСФ (Германия)
Торговое название: Строби
Действующее вещество : крезоксим-метил (BAS 490 F)
(Е)-метил-2-метоксиимино-2-/2-(о-толилокси-метил)фенил/ацетат (ИЮПАК).



Эмпирическая формула: $C_{18}H_{19}NO_4$
Молекулярная масса: 313,4
Белое кристаллическое вещество со слабым запахом
Температура плавления: 97,2 – 101,7° С
Давление паров при 20°С: $2,3x10^{-3}$ мПа
Растворимость (г/л) при 20°С: вода – 0,002, гептан – 1,7, толуол – 111, дихлорметан – 939, метанол – 14,9, ацетон – 217, этилацетат – 123.
Стабильность к гидролизу при 20°С: DT_{50} = 34 дня (pH 7), 7 часов (pH 9)

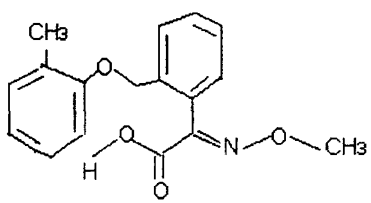
В биологически активных почвах в аэробных условиях крезоксим-метил быстро разрушается: DT_{90} = менее 3 дней.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 5000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2000 мг/кг. Крезоксим-метил не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистую оболочку глаз кролика, не обладает мутагенными и сенсибилизирующими свойствами.

Крезоксим-метил нетоксичен для пчел, дождевых червей, полезных насекомых и птиц. Гигиенические регламенты применения крезоксим-метила: ОДК в почве – 0,2 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,01 мг/дм^3 ; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1 мг/м^3 ; ВМДУ для яблок – 0,1 мг/кг.

Основной метаболит крезоксим-метила : крезоксим (BF 490-1) (E)- 2-метоксиимино-2-/2-(о-толилокси-метил)фенил/ацетат (ИЮПАК).



Эмпирическая формула $C_{17}H_{17}NO_4$

Молекулярная масса: 299,3

Белый порошок без запаха.

Другие физико-химические и токсикологические характеристики основного метаболита крезоксим-метила отсутствуют

В биологически активных почвах в аэробных условиях метаболит относительно стабилен: DT_{50}= 38 дней, DT_{90} = 127 дней.

Область применения препарата

Крезоксим-метил - синтетический фунгицид из класса стробилуринов, являющихся продуцентами гриба Strobilurus tenacellus. Вещество эффективно против широкого круга грибных патогенов хлебных злаков, овощных, кормовых, технических и плодовых культур. Обладает защитным , лечебным и искореняющим действием.

Проходит регистрационные испытания в Росси и странах СНГ под торговым названием Строби, ВДГ (500 г/кг) в яблоневых садах в качестве средства борьбы с возбудителями мучнистой росы, парши, пятнистостей и ржавчины с нормой расхода препарата 0,14-0,32 кг/га при трехкратной обработке (по розовому бутону, после опадения 75% лепестков и по мелким плодам).

Крезоксим-метил весьма лабильное вещество и при попадании в воду или почву быстро гидролизуется с образованием более устойчивого соединения - крезоксима (2-метоксиимино-2-/2-(о-толилокси-метил)фенил/ацетат или BF 490-1). В яблоках крезоксим-метил слабо метаболизируется.

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КРЕЗОКСИМ-МЕТИЛА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, ЯБЛОКАХ И ЕГО МЕТАБОЛИТА КРЕЗОКСИМА В ВОДЕ И ПОЧВЕ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

2.1 Основные положения

2.1.1 Принцип методики

Методика основана на газохроматографическом определении крезоксим-метила и крезоксима (в виде метилового эфира) на неподвижной фазе OV-17 с использованием детектора постоянной скорости рекомбинации ионов (ДПР) или электронзахватного детектора (ДЭЗ) после экстракции препарата из воды гексаном, из почвы и яблок водным ацетоном, а метаболита из подкисленной воды хлористым метиленом и из почвы водным ацетоном при ультразвуковой обаботке, предварительной очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей, метилирования метаболита диазометаном до метилового эфира крезоксима и окончательной очистки экстрактов на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2 Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании яблоневых садов.

2.1.3 Метрологическая характеристика метода

Таблица 1

Метрологические параметры метода

Анализируемый объект	Предел обнаружения мг/дм^3, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/дм^3, мг/кг	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S	Относительное отклонение, DS	Доверительный интервал среднего %
Крезоксим-метил						
Вода	0,001	0,001- 0,01	88,9	4,7	2,1	+/- 4,4
Почва	0,02	0,02 - 0,2	85,0	5,6	2,5	+/- 5,2
Яблоки	0,04	0,04 - 0,4	83,1	5,9	2,6	+/- 5,5
Крезоксим						
Вода	0,0005	0,0005-0,005	91,7	6,8	3,0	+/- 6,3
Почва	0,01	0,01-0,1	85,6	3,9	1,7	+/- 3,6

2.2 Реактивы, растворы и материалы

Крезоксим-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в.99,9 % (БАСФ, Германия)

Крезоксим (BF 490-1), аналитический стандарт с содержанием д.в.99,3% (БАСФ, Германия)

Ацетон, чда, ГОСТ 2603-79

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72

Гексан, ч, ТУ 6-09-3375-78

Калий углекислый, хч, ГОСТ 4221-76

Калия гидроксид, ГОСТ 24363-80

Калия перманганат, хч, ГОСТ 20490-75

Кальция хлорид, хч, ГОСТ 4161-77

Кислота серная, хч, ГОСТ 4204-77

Кислота хлористоводородная, хч, ГОСТ 3118-77

Натрия гидроксид, хч, ГОСТ 4328-77

Натрия сульфат безводный, хч, ГОСТ 4166-76

Натрий углекислый , хч, ГОСТ 83-63

Натрия хлорид, хч, ГОСТ 4233-77
N-метил-N-нитрозо-п-толуолсульфонамид (Мерк,Германия) или N-нитрозометилмочевина, ТУ 6-09-11-1643-82
Спирт метиловый, хч, ГОСТ 6995-77
Толуол, хч, ТУ 6-09-4305-76
Хлористый метилен, ГОСТ 12794-80
Этилацетат, ГОСТ 22300-76
Эфир диэтиловый, ГОСТ 6562-74
Элюент № 1 для колоночной хроматографии: смесь гексан - этилацетат, 95:5, по объему
Элюент № 2 для колоночной хроматографии: смесь гексан - этилацетат, 90:10, по объему
Силикагель для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) I степени активности или силикагель КСК (60-100 меш)
Стекловата
Целит 535 (2-15 мкм) /Серва, Германия/ или аналогичный
Фильтры бумажные, синяя лента, ТУ 6-09-1678

2.3 Приборы, аппаратура, посуда
Газовый хроматограф с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов «Цвет-560» или хроматограф газовый с электронзахватным детектором «Кристалл 2000 М»
Колонка хроматографическая, стеклянная, 2000 х 2 мм, неподвижная фаза – 3% OV-17 на Инертоне N-AW супер (0,16-0,20 мм)
Колонка хроматографическая, стеклянная, 2000 х 2 мм, неподвижная фаза – 5% SE-30 на Инертоне N-AW-DMCS (0,16-0,20 мм)
Микрошприц емкостью 10 мкл МШ-10Ф по ТУ 64-1-2850
Баня ультразвуковая, модель D-50, Branson Inst.Co., США или другая аналогичного типа
Весы аналитические типа ВЛР-200, ГОСТ 19401-74
Водоструйный насос, ГОСТ 10696-75
Встряхиватель механический, ТУ 64-1-1081-73
Гомогенизатор, МРТУ 42-1505-63, или аналогичный
Иономер ЭВ-74, ГОСТ 22261-76, или аналогичный
Прибор для перегонки при атмосферном давлении
Ротационный испаритель тип ИР-1М, ТУ 25-11-917-76
Сито с диаметром отверстий 1 мм
Баня водяная , ТУ 46-22-603-75
Воронка Бюхнера, ГОСТ 0147-73
Воронки делительные вместимостью 100, 250 и 500 мл, ГОСТ 25336-82
Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75
Колба Бунзена, ГОСТ 5614-75

Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100, 250 и 500 мл, ГОСТ 9737-70
Колбы конические с притертыми пробками вместимостью 250 мл, ГОСТ 25336-82
Колбы мерные вместимостью 25,50 и 100 мл, ГОСТ 1770-74
Колбы грушевидные вместимостью 20 и 100 мл, ГОСТ 25336-82
Пипетки мерные вместимостью 1,2,5 и 10 мл, ГОСТ 20292-74Е
Пробирки градуированные с притертыми пробками вместимостью 5 и 10 мл, ГОСТ 10515-75
Цилиндры мерные вместимостью 25, 50, 100, 250 и 500 мл, ГОСТ 1770-74

2.4 Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов " (N 2051-79 от 21.08.79 г.).

Отобранные пробы почвы и яблок хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более 3 дней. Для длительного хранения пробы почвы доводят до воздушно-сухого состояния и хранят в холодильнике; пробы яблок хранят до анализа в морозильной камере при температуре $-18^{\circ}C$. Пробы воды хранят при температуре не выше $4^{\circ}C$ в течение 3 дней, при температуре $-18^{\circ}C$ в течение месяца.

Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, а яблоки измельчают.

2.5 Подготовка к определению

2.5.1 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 тех пор, пока свежая порция кислоты не перестанет окрашиваться. Затем растворители последовательно промывают водой, 2,5%-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего сушат над гидроксидом натрия и перегоняют.

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

Этилацетат промывают равным объемом 5%-ного раствора углекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

Диэтиловый эфир (1 л) предварительно встряхивают с 20 мл свежеприготовленного раствора железного купороса (30 г сульфата железа в 55

мл воды с добавлением 1,5 г концентрированной серной кислоты). Затем диэтиловый эфир последовательно промывают 0,5%-ным раствором перманганата калия, 5%-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.2 Подготовка и кондиционирование колонки

Готовую насадку (3% OV-17 на Инертоне N-AW супер) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 270°С в течение 8-10 часов.

2.5.3 Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор крезоксим-метила с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 99,9% д.в., в толуоле в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранят холодильнике не более месяца.

Рабочие растворы с концентрациями 0,025 , 0,05, 0,1, 0,25 и 0,5 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора крезоксим-метила соответствующим последовательным разбавлением толуолом. Рабочие растворы хранят в холодильнике не более трех дней.

При изучении полноты открывания крезоксим-метила в модельных матрицах используются ацетоновые растворы вещества.

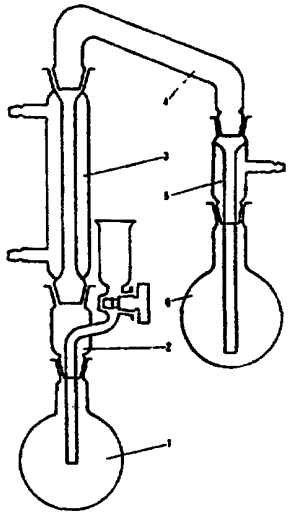
Основной стандартный раствор метаболита крезоксима с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 99,3% д.в., в ацетоне в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранят холодильнике не более месяца.

Из основного стандартного раствора метаболита готовят разбавлением ацетоном рабочие растворы с концентрациями 0,1, 0,5 и 2,5 мкг/мл, которые хранят в холодильнике не более 10 дней. Рабочие растворы используются при изучении полноты открывания крезоксима в воде и почве. При расчете количества вводимого в матрицу метаболита учитывают соотношение молекулярных масс крезоксима и метилового эфира крезоксима.

2.5.4 Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 2 мкл рабочего стандартного раствора крезоксим-метила с концентрацией 0,025 , 0,05, 0,1, 0,25 и 0,5 мкг/мл . Осуществляют не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение высоты хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты хроматографического пика в мм от концентрации крезоксим-метила в мкг/мл.

2.5.5 Приготовление раствора диазометана в эфире



В круглодонной колбе на 100 мл растворяют 5 г N-метил-N-нитрозо-п-толуолсульфонамида в16 мл смеси диэтилового эфира и метанола (1:1). Колбу присоединяют к холодильнику, нижний конец которого снабжен алонжем с отводом, проходящим через резиновую пробку с отводом и погруженным в слой эфира (40 мл) на дне приемника. Приемник охлаждают смесью льда и соли. В капельницу помещают 15 мл 50%-ного раствора едкого калия.

Реакцию начинают добавлением в реакционный сосуд раствора едкого калия по каплям , избегая бурного вскипания реакционной массы. Об окончании реакции судят по прекращению выделения диазометана в диэтиловый эфир

Рис Прибор для получения диазометана
1 –реакционный сосуд; 2 – переходник с капельницей; 3 – холодильник; 4 – переходник; 5 – насадка с отводом; 6 – приемная колба

2.5.6 Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1,2 см вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и приливают около 10 мл гексана. Затем в колонку вносят суспензию 5 г силикагеля в 20 мл гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают последовательно 50 мл элюента № 2 и 30 мл элюента № 1 со скоростью 1-2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.6 Описание определения

2.6.1 Экстракция крезоксим-метила и крезоксима и очистка экстракта.

2.6.1.1 Вода. 100 мл предварительно отфильтрованной воды помещают в делительную воронку емкостью 250 мл, добавляют 20 мл гексана и встряхивают 1 мин. Верхний органический слой отделяют, собирая в грушевидную колбу на 100 мл. Водную фазу экстрагируют гексаном еще дважды порциями по 20 мл. Объединенную органическую фазу, содержащую крезоксим-метил, пропускают через слой безводного сульфата натрия и

упаривают на роторном вакуумном испарителе досуха при температуре 30° С. Остаток растворяют в 2 мл толуола и анализируют на содержание крезоксим-метила по п. 2.7.

Водную фазу , оставшуюся после экстракции гексаном, переносят в делительную воронку емкостью 250 мл, подкисляют 1 н.HCl до pH 2 и трижды экстрагируют хлористым метиленом порциями по 20 мл. Объединенную органическую фазу , содержащую метаболит крезоксим, пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают небольшими порциями в 20-мл грушевидной колбе на роторном вакуумном испарителе досуха при температуре 30° С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп.2.6.2 и 2.6.3.

2.6.1.2 Яблоки.

К навеске (25 г) измельченного материала добавляют 100 мл смеси ацетон-вода (2:1, по объему), гомогенизируют 3 минуты при 10000 об/мин и суспензию перемешивают в течение 20 мин на аппарате для встряхивания. Добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу на 250 мл. Осадок на фильтре промывают 50 мл смеси ацетон-вода (2:1, по объему).Из объединенного экстракта отбирают аликвоту раствора (15 мл) , эквивалентную 2,5 г растительного материала, и упаривают ее до водной фазы на роторном вакуумном испарителе при температуре 40°С. Водный остаток переносят в делительную воронку емкостью 100 мл, приливают 10 мл насыщенного раствора хлорида натрия и 15 мл гексана. Смесь встряхивают в течение 1 мин и после ее расслоения отделяют гексановый слой, который пропускают через стеклянный фильтр, заполненный безводным сульфатом натрия, в грушевидную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию водной фракции гексаном повторяют еще два раза (по 15 мл). Объединенный гексановый экстракт, содержащий крезоксим-метил , выпаривают на роторном испарителе досуха при температуре 30°С Дальнейшую очистку экстракта проводят по п.2.6.3.

2.6.1.3 Почва. Навеску (25 г) воздушно-сухой почвы помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, приливают 100 мл смеси ацетон-вода (2:1, по объему) и помещают в ультразвуковую баню на 5 мин. К суспензии добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают 50 мл смеси ацетон-вода (2:1, по объему). Из объединенного экстракта отбирают аликвоту раствора (27 мл), эквивалентную 5 г почвы, и упаривают ее до водной фазы на роторном вакуумном испарителе при температуре 40°С. Водный остаток переносят в делительную воронку емкостью 100 мл, приливают 15 мл бидистиллированной воды и 15 мл гексана. Смесь встряхивают в течение 1 мин и после ее расслоения отделяют гексановую фракцию, которую пропускают через стеклянный фильтр, заполненный безводным сульфатом натрия, в грушевидную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию водной фракции

гексаном повторяют еще два раза (по 15 мл). Объединенный гексановый экстракт, содержащий крезоксим-метил , выпаривают на роторном испарителе досуха при температуре 30°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п.2.6.3.

Оставшуюся после обработки гексаном водную фазу подкисляют 1 н.HCl до pH 2 и переносят в делительную воронку емкостью 100 мл, приливают 10 мл хлористого метилена и воронку встряхивают в течение 1 мин. После разделения слоев отделяют дихлорметановую фракцию, которую пропускают через стеклянный фильтр, заполненный безводным сульфатом натрия, в грушевидную колбу вместимостью 20 мл. Экстракцию водной фракции хлористым метиленом повторяют еще два раза (10 + 5 мл). Объединенный дихлорметановый экстракт экстракт, содержащий метаболит крезоксим , выпаривают на роторном испарителе досуха при температуре 30°С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 2.6.2 и 2.6.3.

2.6.2 Метилирование

К сухим остаткам водного (из п.2.6.1.1) и почвенного (из п.2.6.1.3) экстрактов , содержащим метаболит крезоксим , приливают соответственно 2 и 3 мл эфирного раствора диазометана (из п.2.5.5), перемешивают, закрывают колбочки пробками и оставляют стоять в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем растворы упаривают досуха током воздуха.

2.6.3 Очистка на колонке с силикагелем

Остаток в колбе, полученный при упаривании экстрактов растительного материала и почвы (из 2.6.1.2 и 2.6.1.3) или метилированных по п.2.6.2 экстрактов воды и почвы , количественно переносят тремя 1-мл порциями элюента №1 в подготовленную хроматографическую колонку (п. 2.5.6). Промывают колонку 20 мл элюента №1, которые отбрасывают. Крезоксим-метил элюируют 50 мл элюента №2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30°С. Сухие остатки экстрактов воды, почвы и яблок растворяют в 2 мл толуола и анализируют по п. 2.7.

2.7 Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Цвет- 560» с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов с пределом детектирования по линдану не выше $1{,}6 \times 10^{-14}$ г/см^{3}или газовый хроматограф «Кристалл – 2000 М» с электронзахватным детектором с пределом детектирования по линдану не выше $8{,}2 \times 10^{-15}$ г/см^3.

Показания электрометра - 4×10^{10}.

Скорость движения ленты самописца – 25,4 см/час

Колонка стеклянная, спиральная 2000 х 2 мм; неподвижная фаза - 3% OV-17 на Инертоне N-AW супер (0,16-0,20 мм)

Температура детектора 320°С, инжектора 280°С, термостата колонки 265°С .

Скорость потока газа-носителя (азота) - 30 мл/мин

Объем вводимой пробы - 2 мкл

Время удерживания крезоксим-метила - 4 мин.

Предел детектирования - 0,1 нг

Линейный диапазон детектирования - 0,1 - 1,0 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 толуолом.

Альтернативная фаза: 5% SE-30 на Инертоне N-AW DMCS (0,16 - 0,20 мм); колонка стеклянная 2000 х 2 мм; условия хроматографирования те же

2.8 Обработка результатов анализа

Содержание крезоксим-метила рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание крезоксим-метила в пробе, мг/кг или мг/дм^3 ;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_0 - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора крезоксим-метила ,мкг/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m - объем (мл) или масса (г) анализируемой части образца (для воды 100 мл; для почвы 5 г; для яблок 2,5 г).

Содержание метаболита крезоксима рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание крезоксима в пробе, мг/кг или мг/дм^3 ;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_0 - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора крезоксим-метила ,мкг/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m - объем (мл) или масса (г) анализируемой части образца (для воды 100 мл; для почвы 5 г).

К – коэффициент пересчета ,учитывающий соотношение молекулярных масс крезоксим-метила и крезоксима , равный 1,05.

3. Требования техники безопасности

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

4. Разработчики

Дубовая Л.В., научн. сотр.; Талалакина Т.Н., научн. сотр.;
Макеев А.М., зав.лаб., канд. биол.наук.
ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы,
тел. 592-92-20

Подпись руки Л.В.Дубовой , Т.Н.Талалакиной, А.М. Макеева заверяю

Зав. канцелярией (Эльцберг Е.Р.)

gost.e-ecolog.ru