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
2003 г.
МУК 4.1.
Дата введения: 30 июня 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания по определению остаточных количеств Флутриафола в воде, почве, зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культ ботве и корнеплодах сахарной свеклы, винограде и яблоках методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

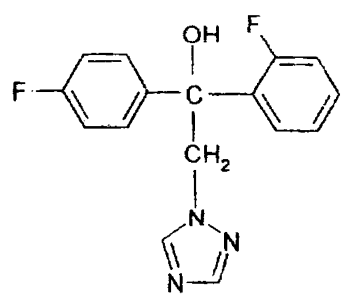
1.Вводная часть.

Фирма-производитель: Зенека.

Торговое название: Импакт, Винцит (смесевой препарат с Тиабендазолом).

Название действующего вещества по ИСО: Флутриафол

Название действующего вещества по ИЮПАК: (RS)-2,4-дифтор–α-(1H-1,2,4-триазол-1-илме



тил)бензгидрил алкоголь.

Эмпирическая формула: $C_{16}H_{13}F_2N_3O$.

Молекулярная масса: 301,3.

Химически чистый Флутриафол представляет собой белое кристаллическое вещество.

Давление паров: 7,1 x 10^{-6} мПа при 20° С.

Температура плавления:130°С.

Коэффициент перераспределения н-октанол/вода: K_{ow} logP = 2,3 (20° С).

Растворимость (при 20°С): ацетон – 190; дихлорметан - 150,0; метанол – 69; ксилол – 12; гексан – 0,3 г/л; вода – 130 мг/л при pH = 7.

Краткая токсикологическая характеристика: Флутриафол относится к веществам малоопасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ крысы –1140 -1180 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ кролики – более 2000 мг/кг) токсичности и опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ крысы – 4 часа – 1,65 мг/л).. Обладает слабым раздражающим действием на слизистую оболочку глаз и не обладает мутагенным и тератогенным свойствами.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД (мг/кг) массы тела человека - 0,004

ПДК в воде водоемов (мг/л)- 0,006

ПДК в почве (мг/кг) – 0,1

ОБУВ в воздухе рабочей зоны ($мг/м^3$)- 0,5

МДУ в зерне хлебных злаков и в сахарной свекле – 0,05мг/кг

Область применения. Флутриафол – системный и контактный фунгицид искореняющего и защитного действия из группы ингибиторов синтеза стеринов – азолов. Он эффективно подавляет развитие мучнистой росы, септориоза, ржавчины и гельминтоспориоза на зерновых культурах, а также различных видов грибковых заболеваний в посевах сахарной свеклы, на плантациях винограда и яблок.

Зарегистрирован в России и странах СНГ под торговым названием ИМПАКТ (концентрат суспензии, 125 и 250 г/л) в качестве фунгицида на зерновых культурах, сахарной свекле, виноградниках и яблоневых садах с нормой расхода 0,1 - 1,0 л препарата на гектар. Входит в состав препарата ВИНЦИТ (5% с.к.) для обработки семян зерновых культур, подсолнечника и льна с нормой расхода 1,5 – 3,0 л/т

2. Методика определения остаточных количеств Флутриафола в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, винограде и яблоках методом капиллярной газожидкостной хроматографии.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Методика основана на определении Флутриафола методом газожидкостной хроматографии с использованием капиллярной колонки и детектора по захвату электронов после его экстракции из объектов анализа органическим растворителем и очистки экстракта

перераспределением действующего вещества между двумя несмешивающимися фазами и на патроне Диапак С16

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании выше упомянутых 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	0,003	0,003-0,02	89,93	1,54	2,90
почва	0,025	0,025-0,50	91,34	1,02	1,96
зерно	0,025	0,025-0,50	80,91	1,41	2,38
солома	0,100	0,1-0,20	87,06	1,11	2,02
ботва сахарной свеклы, зеленая масса зерновых колосовых	0,025	0,025-0,50	85,11	1,98	3,53
корнеплоды сахарной свеклы	0,025	0,025-0,50	81,34	1,76	2,99
виноград, яблоки	0,025	0,025-0,50	77,45	1,08	1,76

Таблица 2

Доверительный интервал и полнота определения Флутриафола в воде, почве, зерне и соломе колосовых культур, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, винограде и яблоках методом капиллярной ГЖХ.

Среда	Добавлено Флутриафола, мг/кг		Обнаружено Флутриафола, мг/кг	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
	расчетное количество	фактическое количество			
1	2	3	4	5	6
вода	0,02	0,02	0,0193	0,0005	96,7
	0,01	0,01040	0,00964	0,0004	92,7
	0,005	0,00541	0,000469	0,0003	86,7
	0,003	0,00338	0,00283	0,0002	83,7
почва	0,50	0,509	0,466	0,0330	91,5
	0,25	0,251	0,229	0,0155	91,2
	0,05	0,0508	0,0451	0,0017	88,8
	0,025	0,025	0,00235	0,0008	93,8
зерно	0,50	0,471	0,372	0,0216	78,9
	0,25	0,228	0,178	0,0124	78,0
	0,05	0,0499	0,0415	0,0025	83,2
	0,025	0,0247	0,0206	0,0020	83,6
солома	2,0	1,999	1,712	0,0969	85,6
	1,0	1,014	0,875	0,0714	86,3
	0,2	0,204	0,175	0,0084	85,7
	0,1	0,994	0,901	0,0364	90,6
Ботва сахарной свеклы, зеленая масса зерновых	0,5	0,524	0,422	0,0334	80,5
	0,25	0,248	0,211	0,0234	85,2
	0,05	0,0548	0,0439	0,0028	80,2
	0,025	0,0257	0,0243	0,0001	94,6

Продолжение таблицы 2.

1	2	3	4	5	6
Корнеплоды сахарной свеклы	0,5	0,521	0,418	0,0418	80,2
	0,25	0,253	0,197	0,0133	78,0
	0,05	0,0464	0,0383	0,0025	82,6
	0,025	0,0251	0,0212	0,0029	84,5
Виноград, яблоки	0,5	0,491	0,370	0,0127	75,3
	0,25	0,250	0,193	0,0055	77,0
	0,05	0,0478	0,0372	0,0024	77,9
	0,025	0,0255	0,0203	0,0018	79,6

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Флутриафол, аналитический стандарт фирмы Зенека с содержанием д.в. 95,8%.

Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Ацетон, ГОСТ 2603-79.

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

Гелий, осч,

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Концентрирующие патроны ДИАПАК С16, ТУ 4215-002-05451931-94.

Метилен хлористый, ГОСТ 19433-88.

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

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

Хлороформ, ч., ГОСТ 20015-74

Флоризил для колоночной хроматографии, зернение 60/100 меш, фирмы Флюка

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

Воронки делительные на 250 и 500 мл, ГОСТ 23336-82.

Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75.

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

Колонки для адсорбционной хроматографии длиной 15 см, диаметр 1,5 см.

Колонка капиллярная для ГЖХ DB-1701, длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм, неподвижная фаза OV-17, фирма J & W Scietific, Fisons, США или аналогичная.

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

Колбы конические на шлифе на 250 и 500 мл, ГОСТ 10394-72.

Колбы круглодонные на шлифе на 250 мл, ГОСТ 23932-79.

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

Микропипетки, 6ОСТ 1770-74

Микрошприц на 10 мкл, ТУ Е-2.833.0.24.

Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.

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

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

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

Хроматограф газовый с детектором по захвату электронов (^{63}Ni) "Кристалл 2000 М" с пределом детектирования по Линдану не выше 4 10^{-14} и капиллярной колонкой или другой аналогичного типа.

Центрифуга, МРТУ 42-219 – 69 или аналогичная.

Цилиндры мерные емкостью 25, 50 и 100 мл, ГОСТ 1770-74.

2.3. Подготовка к определению.

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонок для газожидкостной хроматографии.

Капиллярную колонку с фазой DB 1701 устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 230° С в течение 8-10 часов.

2.3.2. Приготовление стандартных растворов.

Взвешивают 50 мг Флутриафола 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 Флутриафола в ацетоне с концентрацией 0,5; 0,25, 0,05 и 0,025 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 2 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 Флутриафола в мкг/мл.

2.3.4. Подготовка колонки с Флоризилом.

В пластмассовую колонку длиной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно чистую стекловату и заполняют колонку 5 г Флоризила 60/100 меш, уплотняя его путем вибрации колонки. На слой Флоризила наносят слой безводного сернокислого натрия толщиной 1 см. За день до определения Флоризил в колонке промывают 20 мл ацетона, а в день определения – 10 мл гексана.

2.3.5. Проверка хроматографического поведения Флутриафола на колонке.

В подготовленную колонку вносят 1 мл стандартного раствора Флутриафола в ацетоне с концентрацией 0,5 мкг/мл (раздел 2.3.2) и 4 мл гексана. Колонку промывают последовательно 20 мл гексана и 10 мл смеси гексан:ацетон в соотношении 2:3. Смывы отбрасывают. После этого последовательно пропускают через колонку 4-5 порций смеси гексан:ацетон (1:5) по 5 мл каждая, собирая их в отдельные концентраторы. Собранные фракции упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы. Фракции, содержащие Флутриафол, объединяют, упаривают досуха, сухой остаток вновь растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смыва с колонки и необходимый для очистки объем элюата.

Примечание:

Хроматографическое поведение Флутриафола на колонке обязательно проверяют при отработке методики и каждый раз при использовании новой партии Флоризила.

2.3.6. Подготовка дистиллированной воды для очистки пробы на патроне С16 (ДИАПАК).

При работе на патронах С16 используют только очищенную воду! Дистиллированную воду кипятят 6 часов с марганцовокислым калием, добавленным из расчета 1 г/л и затем перегоняют.

2.3.7. Подготовка концентрирующего патрона С16 (ДИАПАК).

Все растворы пропускают через патрон под вакуумом, скорость потока растворов не более 2 мл/мин (или 1 капля в 2 секунды). Патрон устанавливают на аллонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 мл, который используют как емкость для элюентов.

Патрон кондиционируют, пропуская через него последовательно 10 мл ацетонитрила и 10 мл очищенной дистиллированной воды. Смывы отбрасывают.

Нельзя допускать осушения поверхности патрона!

2.3.8. Проверка хроматографического поведения Флутриафола на патроне С16.

В концентратор объемом 100 мл помещают 1 мл стандартного раствора Флутриафола в ацетоне с концентрацией 0,5 мкг/мл. Ацетон упаривают на ротационном вакуумном испарителе. Флутриафол в концентраторе растворяют в 1 мл ацетонитрила, добавляют 9 мл очищенной дистиллированной воды, тщательно перемешивают смесь, наносят ее на патрон и пропускают через него со скоростью, указанной в разделе 2.5.2.1. Смыв отбрасывают. Промывают патрон 10 мл смеси ацетонитрил:вода (1:3), смыв отбрасывают. Элюируют Флутриафол последовательно 4 порциями по 5 мл смеси ацетонитрил:вода в соотношении 1:1, собирая каждую порцию в отдельный концентратор. Собранные фракции упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы. Фракции, содержащие Флутриафол, объединяют, упаривают досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток вновь растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смыва с колонки и необходимый для очистки объем элюата.

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). Пробы зеленой массы зерновых культур, ботвы и корнеплодов сахарной свеклы, винограда и яблок хранятся в запаянных пластиковых пакетах в замороженном виде. 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, зеленую массу измельчают ножницами; корнеплоды свеклы и яблоки - на терке, виноград – в гомогенизаторе.

2.5. Описание определения.

2.5.1.Вода.

Образец воды объемом 100 мл помещают в делительную воронку на 250 мл и экстрагируют метилен хлоридом порцией 20 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения слоев нижний слой метилен хлорида собирают в концентратор, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водный слой оставляют в делительной воронке. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 20 мл метилен хлорида каждый раз и пропуская его через слой безводного сульфата натрия. Объединенный метилен-

хлоридный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40°С досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы.

2.5.2. Почва.

2.5.2.1. Экстракция и предварительная очистка экстракта. Образец воздушно-сухой почвы массой 10 г смачивают 20 мл дистиллированной воды, добавляют 50 мл ацетонитрила и встряхивают смесь на аппарате для встряхивания 0,5 часа. Затем пробу центрифугируют в течение 2 минут при 6000 об/мин. Экстракт осторожно сливают по стеклянной палочке в воронку с бумажным фильтром и собирают его в концентратор емкостью 250 мл. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 50 мл ацетонитрила и встряхивая пробу каждый раз в течение 0,5 часа. Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40°С до водного остатка. К водному остатку в концентраторе приливают 100 мл дистиллированной воды, перемешивают содержимое и переносят водную фазу в делительную воронку. Помещают в делительную воронку 20 мл метилен хлорида и экстрагируют Флутриафол из водной фазы, встряхивая делительную воронку в течение 1-2 минут. После разделения слоев нижний слой метилен хлорида сливают в чистый концентратор, пропуская его через слой безводного сульфата натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 20 мл метилен хлорида каждый раз. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре 40° С. Сухой остаток в концентраторе разводят в 1 мл ацетона и 4 мл гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят содержимое на колонку с Флоризилом для дополнительной очистки пробы.

2.5.2.2. Очистка экстракта на колонке с Флорисилом.

На подготовленную колонку наносят 5 мл пробы, разведенной в 1мл ацетона и 4 мл гексана. Колонку промывают последовательно 20 мл гексана и 10 мл смеси гексан-ацетон в соотношении 2:3. Смывы отбрасывают. Флутриафол элюируют с колонки 15 мл смеси гексан:ацетон в соотношении 1:5. Смыв собирают в концентратор и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе. После очистки сухой остаток в концентраторе разводят в 10 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы.

2.5.3. Зерно.

Навеску зерна массой 10 г помещают в колбу объемом 250 мл, смачивают 20 мл дистиллированной воды, добавляют 50 мл ацетонитрила и встряхивают смесь на аппарате для встряхивания 0,5 часа (или гомогенизируют на блендере в течение 3 минут). Затем экстракт отфильтровывают через бумажный фильтр в делительную воронку емкостью 250 мл. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 50 мл ацетонитрила и встряхивая пробу каждый раз в течение 0,5 часа (или 3 минуты на блендере). Экстракты отфильтровывают в ту же делительную воронку.

Объединенные экстракты промывают 20 мл гексана, встряхивая делительную воронку в течение 1 минуты. После разделения слоев нижний слой (ацетонитрил-вода) сливают в стакан емкостью 200 мл, гексан отбрасывают. Экстракт возвращают в делительную воронку и промывают его еще раз 20 мл гексана. Промытый экстракт сливают в концентратор и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка. Добавляют в концентратор 100 мл дистиллированной воды, перемешивают содержимое, обмывая стенки концентратора, и отфильтровывают водную фазу в чистую делительную воронку через бумажный фильтр. Затем в воронку приливают 25 мл метилен хлорида и встряхивают ее содержимое в течение 1-2 минут. После разделения фаз нижний слой метилен хлорида сливают в концентратор через безводный сульфат натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 25 мл метилен хлорида. Объединенные экстракты метилен хлорида упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток в концентраторе разводят в 1 мл ацетона и 4 мл гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят содержимое на колонку с Флоризилом для дополнительной очистки пробы.

Очистку пробы на колонке проводят по схеме, приведенной в разделе 2.5.2.2.

После очистки сухой остаток в концентраторе разводят в 10 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы.

2.5.4. Солома.

2.5.4.1. Экстракция и предварительная очистка. Навеску измельченной соломы 5 г помещают в колбу на 250 мл, смачивают 20 мл дистиллированной воды, заливают 100 мл ацетона и встряхивают в течение 0,5 часа на встряхивателе (или гомогенизируют в течение 3 минут на блендере). Экстракт сливают в концентратор через воронку с бумажным фильтром. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 50 мл ацетона. Объединенный экстракт упаривают до водного остатка. Добавляют в концентратор 100 мл дистиллированной воды, перемешивают содержимое, обмывая стенки концентратора, и отфильтровывают водную фазу в чистую делительную воронку через бумажный фильтр. Затем в воронку добавляют 1 мл насыщенного раствора хлористого натрия, приливают 25 мл метилен хлорида и экстрагируют Флутриафол по схеме, приведенной в разделе 2.6.3. Объединенные экстракты метилен хлорида упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток в концентраторе разводят в 2 мл ацетона и 8 мл гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят 5 мл смеси (1/2 пробы!) на колонку с Флоризилом для очистки пробы. Схема очистки приведена в разделе 2.5.2.2.

2.5.4.2. Очистка экстракта на патроне С16. После очистки на колонке с Флоризилом пробу в концентраторе упаривают досуха. Сухой остаток разводят в 1 мл ацетонитрила, добавляют 9 мл очищенной дистиллированной воды, тщательно перемешивают смесь, наносят

ее на патрон и пропускают через него со скоростью не более 2мл/мин (раздел 2.3.8.), смыв отбрасывают. Промывают патрон 10 мл смеси ацетон:вода (1:3), смыв отбрасывают. Флутриафол элюируют с патрона 15 мл смеси ацетон: вода (1:1). Элюат собирают в концентратор и упаривают досуха. Сухой остаток разводят в 10 мл ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, и вводят в хроматограф 2 мкл пробы.

2.5.5. Зеленая масса зерновых колосовых культур и ботва сахарной свеклы.

Навеску зеленой массы 10 г помещают в колбу объемом 250 мл, добавляют 50 мл ацетонитрила и встряхивают смесь на аппарате для встряхивания 0,5 часа (или гомогенизируют на блендере в течение 3 минут). Затем экстракт сливают в воронку с бумажным фильтром и собирают его в делительную воронку емкостью 250 мл. Экстракцию повторяют еще два раза, используя 50 мл ацетонитрила и встряхивая пробу каждый раз в течение 0,5 часа (или 3 минуты на блендере). Экстракты отфильтровывают в ту же делительную воронку.

Объединенные экстракты промывают 20 мл гексана, встряхивая делительную воронку в течение 1 минуты. После разделения слоев нижний слой (ацетонитрил-вода) сливают в стакан емкостью 200 мл, гексан отбрасывают. Экстракт возвращают в делительную воронку и промывают его еще раз 20 мл гексана. Промытый экстракт сливают в концентратор, добавляют туда 20 мл дистиллированной воды и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка. Водный остаток в концентраторе разводят 100 мл дистиллированной воды, перемешивают содержимое, обмывая стенки концентратора, и отфильтровывают водную фазу в чистую делительную воронку через бумажный фильтр. Затем в воронку приливают 25 мл метилен хлорида и встряхивают ее содержимое в течение 1-2 минут. После разделения фаз нижний слой метилен хлорида сливают в концентратор через безводный сульфат натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 25 мл метилен хлорида. Объединенные экстракты метилен хлорида упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток в концентраторе разводят в 1 мл ацетона и 4 мл гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят содержимое на колонку с Флоризилом для дополнительной очистки пробы.

Очистку пробы на колонке проводят по схеме, приведенной в разделе 2.5.2.2.

После очистки сухой остаток в концентраторе разводят в 10 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы.

2.5.6.Корнеплоды сахарной свеклы, виноград и яблоки.

Навеску корнеплодов сахарной свеклы, винограда или яблок 10 г помещают в колбу на 250 мл, добавляют 50 мл ацетонитрила и встряхивают смесь на аппарате для встряхивания 0,5 часа (или гомогенизируют на блендере в течение 3 минут). Затем экстракт сливают в воронку с бумажным фильтром и собирают его в делительную воронку емкостью 250 мл. Экстракцию

повторяют еще два раза, используя 50 мл ацетонитрила и встряхивая пробу каждый раз в течение 0,5 часа (или 3 минуты на блендере). Экстракты отфильтровывают в ту же делительную воронку.

Объединенные экстракты промывают 20 мл гексана, встряхивая делительную воронку в течение 1 минуты. После разделения слоев нижний слой (ацетонитрил-вода) сливают в стакан емкостью 200 мл, гексан отбрасывают. Экстракт возвращают в делительную воронку и промывают его еще раз 20 мл гексана.

Промытый гексаном экстракт собирают в концентратор и упаривают до объема 5 мл при температуре 40°С. К остатку в концентраторе приливают 150 мл дистиллированной воды, перемешивают содержимое, обмывая стенки концентратора, и переносят водную фазу в чистую делительную воронку. Приливают в делительную воронку 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия. Затем в воронку добавляют 25 мл метилен хлорида и встряхивают ее содержимое в течение 1-2 минут. После разделения фаз нижний слой метилен хлорида сливают в концентратор через безводный сульфат натрия. Экстракцию повторяют еще два раза, используя каждый раз по 25 мл метилен хлорида. Объединенные экстракты метилен хлорида упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Сухой остаток в концентраторе разводят в 1 мл ацетона и 4 мл гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и наносят содержимое на колонку с Флоризилом для дополнительной очистки пробы.

Очистку пробы на колонке проводят по схеме, приведенной в разделе 2.5.2.2.

Корнеплоды сахарной свеклы дополнительно очищают на патроне С16, как указано в разделе 2.5.4.2.

После очистки пробу разводят в 10 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл пробы.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов.

2.6.1. Условия хроматографирования.

Хроматограф "Кристалл 2000м" с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов с пределом детектирования по Линдану не выше $4 \cdot 10^{-14}$ г/см^3.

Колонка капиллярная кварцевая, длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм,

жидкая фаза OV-17.

2.6.1.1. Режим работы хроматографа - нормальный

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 190°С, выдержка 3 минуты; нагрев колонки – по 4 градуса в минуту до температуры 205°С, выдержка 6 минут; нагрев колонки – 40 градусов в минуту до температуры 245°С, выдержка 2 минуты.

Температура испарителя - 260°С, детектора - 300°С.

Газовый режим: газ-носитель – гелий ($Г_1$ и $Г_2$), общий расход гелия – 15 мл/мин, расход на колонке – 0,5 мл/мин; газ для поддува в детектор ($Г_3$) – азот, расход – 45-65 мл/мин.

Абсолютное время удержизания Флутриафола - 10 мин 51 сек. - 11 мин 02 сек.

Объем вводимой пробы – 2 мкл.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,05 – 1,0 нг.

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

2.6.1.2. Режим работы – Splitless.

Температура термостата колонки программированная. Начальная температура – 160°С, выдержка 2 минуты; нагрев колонки – по 3 градуса в минуту до температуры 205°С, выдержка 10 минут; нагрев колонки – 40 градусов в минуту до температуры 245°С, выдержка 2 минуты.

Температура испарителя - 260°С, детектора - 300°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 245°С в течение 3 минут: продувка детектора азотом – 75 мл/мин; продувка испарителя гелием – 60 мл/мин.

Абсолютное время удерживания Флутриафола - 18 мин 00 сек. - 18 мин 02 сек.

Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,025 – 1,0 нг.

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

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

2.6.2. Обработка результатов анализов.

Содержание Флутриафола в пробах воды, почвы, зерна, соломы, зеленой массы, корнеплодов сахарной свеклы, винограда и яблок рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

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

X - содержание Флутриафола 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 Флутриафола в аналитическом стандарте.

* Для проб соломы полученный результат умножают на коэффициент 2, так как для очистки на колонке и патроне берут аликвоту, соответствующую 1/2 пробы.

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; Фролова Н.С., ст. инженер; Московская сельскохозяйственная академия имени К.А.Тимирязева 127550, Москва, Тимирязевский пр., 2, кафедра химических средств защиты растений. Телефон: 976-02-20, факс: 976-43-26. E-mail: gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru