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. Онищенко

МУК 4.1. 1437-03

Дата введения: 30 июня 2003 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств Тритосульфурона в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зерне и зеленой массе кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

1. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

Фирма производитель: БАСФ

Торговое название: БАС 635

Название действующего вещества по ИСО: Тритосульфурон

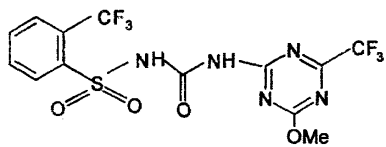
Синонимы: BAS 635 H

Название действующего вещества по ИЮПАК:

1-(2-трифторметилфенилсульфонил)-3-(2-метокси-6-трифторметил-1,3,5-триазин-4-ил)мочевина

Структурная формула:

Эмпирическая формула: $C_{13}H_9F_6N_5O_4S$



Молекулярная масса: 445,33

Химически чистый Тритосульфурон представляет собой белый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления: 166,5-169,4^{0}C

Давление паров <1,0x10 $^{-7}$ мБар (при 20^{0}C)

Коэффициент распределения октанол-вода lg P_{ow} 2,85 (pH 4) , 0,62 (pH 7,0), -2,39 (pH 10,0)

Растворимость в воде 0,044 г/л (при 20^{0}C)

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20°C): ацетон – 300,0, метанол – 23,0, толуол – 4,2, этилацетат – 86,0, хлористый метилен – 25,0.

Константа диссоциации pKa – 4,69 при 20°С.

Стабилен при хранении в обычных условиях в течение 2 лет. Тритосульфурон относительно стабилен в водных растворах, период полуразложения в почве 20-40 дней. Он метаболизируется в почве с образованием четырех метаболитов и, в конечном счете, разлагается до углекислого газа. В растениях Тритосульфурон разлагается в результате процессов гидроксилирования и глюкозилирования в положение 5- фенольного кольца. Остатки его в урожае не обнаруживаются.

Краткая токсикологическая характеристика: Тритосульфурон относится к малоопасным веществам. Острая пероральная токсичность: $ЛД_{50}$ (крысы) более 4700 мг/кг. Не раздражает слизистые и кожу кроликов. В России гигиенические нормативы не установлены.

Область применения препарата: Тритосульфурон - системный гербицид, хорошо проникающий в растение через корни и листья и передвигающийся в растениях в обоих направлениях - базипетально и акропетально. Эффективно подавляет двудольные однолетние сорняки, слабо действует на многолетние двудольные сорные растения и не подавляет злаковые сорняки.

Тритосульфурон рекомендуется для применения на посевах зерновых культур, рисе, сорго, кукурузы и на торфе. Подавляет развитие широколистных сорняков, используется для повсходовой обработки с нормой расхода до 50 г д.в./га.

В России и странах СНГ проходят регистрационные испытания препараты под кодовыми названиями БАС 63500 и БАС 65500 (смесь с Дикамбой) в качестве гербицидов в посевах зерновых культур и кукурузы с нормой расхода до 50 г Тритосульфурона на га при однократной обработке в фазу кущения зерновых культур или 3 – 4 листьев кукурузы.

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ТРИТОСУЛЬФУРОНА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, ЗЕРНЕ И СОЛОМЕ ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ КУЛЬТУР, ЗЕРНЕ И ЗЕЛЕНОЙ МАССЕ КУКУРУЗЫ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.

2.1. Основные положения

2.1.1.Принцип метода

Методика основана на определении Тритосульфурона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта путем перераспределения между двумя несмешивающимися фазами и на концентрирующих патронах на основе силикагеля (Диапак-С). Идентификация вещества проводится по времени удерживания, а количественное определение - методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода.

	Метрологические параметры, p=0,95, n=20				
Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг (мг/л)	Диапазон определяемых концентраций мг/кг (мг/л)	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, %, ±
вода	0,005	0,005-0,050	91,8	2,52	1,18
почва	0,01	0,01-0,10	83,9	1,17	0,52
зерно пшеницы	0,01	0,01-0,10	78,4	2,20	1,03
солома пшеницы	0,05	0,050-0,500	83,7	2,50	1,17
зерно кукурузы	0,01	0,01-0,10	82,6	2,48	1,16
Зеленая масса кукурузы	0,01	0,01-0,10	74,3	1,64	0,77

Таблица 2

Полнота определения Тритосульфурона в воде, почве, зерне и соломе пшеницы, зерне и зеленой массе кукурузы (5 повторностей для каждой концентрации).

Среда	Внесено, мг/кг (мг/л)	обнаружено, мг/кг (мг/л)	доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
1	2	3	4	5
Вода	0,005	0,00448	0,0001	89,6
	0,010	0,00914	0,0003	91,4
	0,020	0,01840	0,0006	92,0
	0,050	0,04698	0,0015	93,96
среднее				91,74

1	2	3	4	5
почва	0,01	0,0083	0,0001	83,0
	0,02	0,0169	0,0004	84,5
	0,05	0,0418	0,0004	83,6
	0,1	0,0846	0,0009	84,6
среднее				83,9
зерно пшеницы	0,01	0,0077	0,0001	77,0
	0,02	0,0155	0,0003	77,5
	0,05	0,0405	0,0010	80,9
	0,1	0,0785	0,0030	78,5
среднее				78,5
Солома пшеницы	0,05	0,0425	0,0002	85,0
	0,10	0,0804	0,0029	80,4
	0,20	0,0167	0,0030	83,5
	0,50	0,4286	0,0082	85,7
среднее				83,6
зерно кукурузы	0,01	0,0084	0,0001	84,0
	0,02	0,0168	0,0003	84,0
	0,05	0,0398	0,0010	79,6
	0,1	0,0837	0,0030	83,7
среднее				82,8
Зеленая масса кукурузы	0,01	0,0073	0,0002	73,0
	0,02	0,0151	0,0005	75,5
	0,05	0,0376	0,0006	75,2
	0,10	0,0736	0,0008	73,6
среднее				74,35

2.1.3. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании пшеницы и кукурузы.

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование.

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы.

Тритосульфурон, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,8%, фирма БАСФ

Ацетон, осч, 9-5, ТУ 2633-00-4-11291058-94

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87.

Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 7602-72.

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375.

Гелий, газообразный очищенный марки «А», ТУ-51-940-80.

Калий марганцовокислый, ч.д.а. ГОСТ 20490-75.

Калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4), безводный

Магния сульфат , $MgSO_4 \times 7\ H_2O$, ГОСТ 4523-67

Натрия бикарбонат, х.ч., ГОСТ 4201-79

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

Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Кислота ортофосфорная , х.ч., ГОСТ 6552-80

Кислота соляная, концентрированная, ГОСТ 857-88

Кислота уксусная, ледяная, ГОСТ 61-75

Кислота уксусная, 0,1 % водный раствор

Хлороформ, ч., ГОСТ 20015-88

Этиловый эфир уксусной кислоты, ГОСТ 223000-76

Подвижная фаза для ВЭЖХ:

ацетонитрил - 450 мл, 0,2% водный раствор ортофосфорной кислоты – 400 мл

Концентрирующие патроны Диапак-С (0,6 г) ТУ 4215-002-05451931-94

Фильтры бумажные, "красная лента", ТУ-6-09-1678-86.

Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс.

2.2.2. Приборы и оборудование.

Хроматограф жидкостной Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа.

Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP-8, зернение 5 мкм, фирма Уотерс или колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Zorbax SB-C18, зернение 5 мкм, фирма Rockland Technologies, Inc..

Ванна ультразвуковая.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80 Е или аналогичные.

Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г, ГОСТ 19491-74.

Воронки делительные на 250 и 500 мл, ГОСТ 25336-82Е.

Воронки конические, стеклянные диаметром 50-60 мм, ГОСТ 25336-082Е.

Встряхиватель механический, ТУ 64-673М или аналогичный.

Колбы конические, плоскодонные на 250 и 500 мл, ГОСТ 9737-70.

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

Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 50, 100 и 250 мл, КТУ-100-14/19, ГОСТ 10394-75.

Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50-100 мкл.

Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.

Пипетки мерные на 0,2; 1,0; 2,0; и 5,0 мл, ГОСТ 20292-74.

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

Стаканы стеклянные на 100-500 мл, ГОСТ 25366-80Е.

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами Диапак - С.

2.3. Подготовка к определению.

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии.

Колонку Symmetry Shield RP-8 или Zorbax SB-C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25°С и скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин в течение 3-4 часов.

2.3.2. Приготовление стандартных растворов.

Взвешивают 100 мг Тритосульфурона в мерной колбе объемом 100 мл. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом (стандартный раствор с концентрацией Тритосульфурона 1,0 мг/мл).. Затем 1,0 мл стандартного раствора с концентрацией 1,0 мг/мл отбирают пипеткой в мерную колбу объемом 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании (стандартный раствор с концентрацией Тритосульфурона 10,0 мкг/мл). Стандартные растворы можно хранить в холодильнике в течение трех месяцев.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 5,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1мкг/мл Тритосульфурона и используют эти растворы для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы.

2.3.3. Подготовка растворителей и приготовление растворов для проведения анализа

2.3.3.1. Подготовка растворителей.

Перед началом эксперимента проверяют чистоту ацетона, гексана, этилацетата и хлороформа. Для этого **досуха** упаривают на ротационном вакуумном испарителе 100 мл растворителя, добавляют в концентратор 2 мл ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют при 230 нм. При недостаточной чистоте растворителей проводят их очистку:

Бидистиллят кипятят в течение 6 часов с марганцовокислым калием, добавленным из расчета 1 г/л, и затем перегоняют.

Ацетон перегоняют над небольшим количеством марганцовокислого калия. (А.Гордон, Р.Форд. Спутник химика, Москва, 1976 г., с.438-439).

н-Гексан встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают бледно-розовым раствором марганцовокислого калия до тех пор, пока раствор не перестанет обесцвечиваться, затем промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (А.Гордон, Р.Форд. Спутник химика, Москва, 1976 г., с.441).

Хлороформ встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (А.Гордон, Р.Форд. Спутник химика, Москва, 1976 г., с.443)

Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат) промывают равным объемом 5% раствора соды, сушат над безводным хлористым кальцием (Беккер Г. и др. Органикум, Москва 1979 г., с.372), кипятят в течение 1 часа с прокаленным сульфатом магния и затем перегоняют.

2.3.3.2. Приготовление 0,05 М K_2HPO_4, pH 9 – щелочного буфера для экстракции.

В мерную колбу объемом 1000 мл помещают 800 мл дистиллированной воды и растворяют в ней 8,7 г K_2HPO_4 и 100 г NaCl , доводят pH (по pH-метру) до 9, используя 1М водный раствор едкого натра , после чего доводят раствор до метки дистиллированной водой.

2.3.3.3. Приготовление 6 М раствора соляной кислоты

В мерную колбу объемом 100 мл помещают 30 мл дистиллированной воды и добавляют туда 49,2 мл концентрированной соляной кислоты, после чего доводят раствор до метки дистиллированной водой

2.3.3.4. Приготовление 0,1% раствора уксусной кислоты в этилацетате

В мерную колбу объемом 100 мл помещают 50 мл этилацетата, туда же добавляют 0,1 мл ледяной уксусной кислоты и доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивая. Раствор используют для элюирования Тритосульфурона с картриджа Диапак С.

2.3.4. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии.

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

2.3.4.1 Приготовление 0, 2% водного раствора ортофосфорной кислоты

В мерную колбу объемом 1000 мл наливают 500 мл очищенной воды, добавляют туда 2 мл концентрированной ортофосфорной кислоты, перемешивают, доводят до метки очищенной водой и тщательно перемешивают.

2.3.4.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 450 мл ацетонитрила и 400 мл 0,2% раствора ортофосфорной кислоты. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 мл/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту. Полученный раствор используют в качестве подвижной фазы.

2.3.5. Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика вводят в хроматограф последовательно 3 раза по 20 мкл каждого из стандартных растворов, содержащих Тритосульфурон с концентрациями 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/мл, измеряют площадь пиков, рассчитывают среднее значение площади пика для каждой концентрации и строят график зависимости площади пика от концентрации Тритосульфурона.

2.3.6. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-С (0,6 г) для очистки экстракта.

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 мл/мин

Патрон Диапак-С устанавливают на Алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 мл (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают последовательно 5 мл этилацетата и 5 мл смеси гексан-этилацетат в соотношении 8:2. Элюат отбрасывают. **Не допускать высыхания поверхности картриджа!**

2.3.7. Проверка хроматографического поведения Тритосульфурона на концентрирующем патроне Диапак-С

Из стандартного раствора Тритосульфурона в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/мл отбирают 1 мл, помещают в круглодонную колбу объемом 100 мл и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 8 мл гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на картридж. Концентратор тщательно обмывают 5 мл смеси гексан-этилацетат в соотношении 8:2 и смесь также вносят на картридж. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют.

Картридж высушивают под вакуумом в течение 2 минут. Тритосульфурон элюируют с картриджа 10 мл 0,1% уксусной кислоты в этилацетате порциями по 5 мл. Элюат после внесения каждой порции упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют. По результатам хроматографического анализа определяют количество уксусной кислоты, необходимой для элюирования Тритосульфурона.

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" (N 2051-79 от 21.08.79). Отобранные пробы зерна и соломы подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при комнатной температуре. Зерно кукурузы хранят в початках после довсдения их до стандартной влажности.

Для длительного хранения пробы почвы подсушивают 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,

Пробы зеленой массы кукурузы хранят в течение до 2-х суток в холодильнике. Для длительного хранения их замораживают и хранят при температуре не выше –15 °С. Перед анализом зерно и солому измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Описание определения

2.5.1 Вода.

Пробу воды объемом 100 мл фильтруют через фильтр “красная лента” в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, добавляют 1,0 г однозамещенного фосфорнокислого калия, перемешивают до полного растворения соли и переносят содержимое пробы в делительную воронку объемом 250 мл. Затем к содержимому делительной воронки добавляют 30 мл хлороформа и интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой отбрасывают.

Водную фазу еще раз промывают 30 мл хлороформа, хлороформ отбрасывают. Водную фазу в делительной воронке подкисляют 6М соляной кислотой до pH 3 (по универсальному индикатору) .Тритосульфурон трижды экстрагируют хлороформом порциями по 30 мл, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. Каждый раз после разделения фаз в воронке нижний слой (хлороформ) собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе

при температуре не выше 30°С. Сухой остаток после упаривания растворяют в 5 мл ацетонитрила и аликвоту объемом 20 мкл хроматографируют.

При необходимости сухой остаток после упаривания хлороформа очищают на патроне Диапак-С, как указано в п. 2.5.2.2. После очистки элюат упаривают досуха, растворяют в 5 мл ацетонитрила и аликвоту объемом 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.2. Зерно колосовых культур.

2.5.2.1. Экстракция и предварительная очистка экстракта. Образец размолотого зерна массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл ацетонитрила и экстрагируют на ультразвуковой ванне в течение 5 минут. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 мл ацетонитрила и экстрагируя на ультразвуковой ванне по 5 минут. Экстракт центрифугируют при 4000 об/мин и фильтруют в делительную воронку объемом 250 мл через фильтр "красная лента".

К объединенному экстракту в делительной воронке добавляют 30 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл и возвращают в делительную воронку, гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт промывают порциями по 30 мл гексана еще 2 раза, гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт собирают в концентратор через химическую воронку с 2 г безводного сульфата натрия и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

К сухому остатку в концентраторе добавляют 5 мл ацетонитрила, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят экстракт в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор ополаскивают 50 мл дистиллированной воды и переносят смыв в ту же делительную воронку. Туда же добавляют 30 мл щелочного фосфатного буфера и перемешивают содержимое. Полученный экстракт промывают тремя порциями гексана по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. Затем экстракт промывают тремя порциями хлороформа по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой отбрасывают. Водную фазу в делительной воронке подкисляют ~ 0,5 мл 6М соляной кислоты до pH 3 (по универсальному индикатору). Тритосульфурон экстрагируют тремя порциями этилацетата по 50 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз верхний этилацетатный слой объединяют в колбе с 5 г безводного сульфата натрия, дают выстояться 10 минут при периодическом перемешивании, затем пропускают через слой осушителя (безводного сульфата натрия), предварительно смоченного 5 мл этилацетата. Осушитель после пропускания через него экстракта промывают 5

мл этилацетата и объединяют с основным экстрактом. Этилацетатный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С, остатки растворителя отдувают холодным воздухом до исчезновения запаха этилацетата.

2.5.2.2. Очистка экстракта на патроне Диапак. Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 8 мл гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на картридж. Концентратор тщательно обмывают 5 мл смеси гексан-этилацетат в соотношении 8:2 и смесь также вносят на картридж. Элюат отбрасывают. Картридж высушивают под вакуумом в течение 2 минут. Тритосульфурон элюируют с картриджа 5 мл 0,1% уксусной кислоты в этилацетате, элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

Пробу, подвергшуюся растворению, нежелательно упаривать и повторно перерастворять, так как при этом уменьшается полнота определения Тритосульфурона. Нежелательно также хранить очищенную пробу в холодильнике в растворенном виде, так как при этом происходит разрушение элементов матрицы, что приводит к значительному уменьшению чистоты пробы и изменению типовой картины.

2.5.3. Солома колосовых культур

Образец размолотой соломы массой 5 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 1 мл дистиллированной воды, 100 мл ацетонитрила и экстрагируют на ультразвуковой ванне в течение 5 минут. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 100 и 75 мл ацетонитрила и экстрагируя на ультразвуковой ванне по 5 минут. Экстракт фильтруют в делительную воронку объемом 500 мл через фильтр "красная лента".

К объединенному экстракту в делительной воронке добавляют 50 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 500 мл и возвращают в делительную воронку, гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт промывают порциями по 50 мл гексана еще 2 раза, гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт собирают в концентратор через химическую воронку с 2 г безводного сульфата натрия и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

К сухому остатку в концентраторе добавляют 5 мл ацетонитрила, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят экстракт в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор ополаскивают 50 мл дистиллированной воды и переносят смыв в ту же делительную воронку. Туда же добавляют 30 мл щелочного фосфатного буфера и перемешивают содержимое. Полученный экстракт промывают тремя порциями гексана по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в тече-

ние 2 минут. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. Затем экстракт промывают тремя порциями хлороформа по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой отбрасывают. Водную фазу в делительной воронке подкисляют ~ 0,5 мл 6М соляной кислоты до pH 3 (по универсальному индикатору). Тритосульфурон экстрагируют тремя порциями этилацетата по 50 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз верхний этилацетатный слой объединяют в колбе с 5 г безводного сульфата натрия, дают выстояться 10 минут при периодическом перемешивании, затем пропускают через слой осушителя (безводного сульфата натрия), предварительно смоченного 5 мл этилацетата. Осушитель после пропускания через него экстракта промывают 5 мл этилацетата и объединяют с основным экстрактом. Этилацетатный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С, остатки растворителя отдувают холодным воздухом до исчезновения запаха этилацетата.

Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата (помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну), тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 8 мл гексана и очищают на концентрирующем патроне Диапак-С, как указано в п. 2.5.2.2.

После очистки элюат упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2,5 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.4. Зерно кукурузы

Образец размолотого зерна кукурузы массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл ацетона и экстрагируют в течение 5 минут на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 минут на механическом встряхивателе . Экстракцию повторяют еще три раза, используя по 50 мл ацетона и экстрагируя на ультразвуковой ванне и механическом встряхивателе по 5 минут. Экстракт центрифугируют при 4000 об/мин, фильтруют в концентратор объемом 250 мл через фильтр "красная лента". Ацетоновый экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

К сухому остатку добавляют 3 мл ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора, туда же добавляют 50 мл дистиллированной воды и 30 мл щелочного фосфатного буфера и перемешивают содержимое. К экстракту в делительной воронке добавляют 30 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний водный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл и возвращают в делительную воронку, гексан отбрасывают. Водный экстракт промывают порциями по 30 мл гексана еще 2 раза, гексан отбрасывают. К водной фазе добавляют 10 мл щелочного фосфатного буфера. Затем экстракт промывают тремя порциями хлороформа по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой отбрасывают. Водную фазу в делительной воронке подкисляют ~ 0,5 мл 6М соляной

кислоты до pH 3 (по универсальному индикатору). Тритосульфурон экстрагируют тремя порциями хлороформа по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой пропускают через слой осушителя (безводного сульфата натрия). Осушитель после пропускания через него экстракта промывают 5 мл хлороформа и объединяют с основным экстрактом. Хлороформный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата (помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну), тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 8 мл гексана и очищают на концентрирующем патроне Диапак-С, как указано в п. 2.5.2.2.

После очистки элюат упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.5. Зеленая масса кукурузы

Образец измельченной зеленой массы кукурузы массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 100 мл ацетонитрила и экстрагируют в течение 5 минут на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 минут на механическом встряхивателе. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 75 мл ацетонитрила и экстрагируя на ультразвуковой ванне и механическом встряхивателе по 5 минут. Экстракт фильтруют в коническую колбу объемом 500 мл с 5 г хлористого натрия через фильтр "красная лента".

Объединенный экстракт тщательно перемешивают и выдерживают в течение 10 минут при комнатной температуре. Затем экстракт переносят в делительную воронку объемом 500 мл, выделившийся нижний водный слой отбрасывают. К объединенному экстракту в делительной воронке добавляют 50 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 500 мл и возвращают в делительную воронку, гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт промывают порциями по 50 мл гексана еще 2 раза, гексан отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт собирают в концентратор, пропуская через слой осушителя (безводного сульфата натрия). Осушитель после пропускания через него экстракта промывают 5 мл ацетонитрила, объединяют с основным экстрактом и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

К сухому остатку в концентраторе добавляют 5 мл ацетона, тщательно обмывают стенки концентратора и переносят экстракт в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор обмывают еще двумя порциями ацетона по 3 и 2 мл и переносят смыв в ту же делительную воронку. Туда же добавляют 30 мл дистиллированной воды, 70 мл щелочного фосфатного буфера и перемешивают содержимое. Полученный экстракт промывают тремя

порциями гексана по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. Затем экстракт промывают тремя порциями хлороформа по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой отбрасывают. Водную фазу в делительной воронке подкисляют ~ 1,0 мл 6М соляной кислоты до pH 3 (по универсальному индикатору). Тритосульфурон экстрагируют тремя порциями хлороформа по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой объединяют в химическом стакане объемом 200 мл, после чего возвращают в делительную воронку, водную фазу отбрасывают. Из хлороформного экстракта Тритосульфурон экстрагируют тремя порциями по 20 мл щелочного буфера, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз верхний водный слой объединяют в химическом стакане, после чего возвращают в делительную воронку, нижний хлороформный слой отбрасывают. Водную фазу в делительной воронке подкисляют ~ 0,5 мл 6М соляной кислоты до pH 3 (по универсальному индикатору). Тритосульфурон экстрагируют тремя порциями хлороформа по 20 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой пропускают через слой осушителя (безводного сульфата натрия). Осушитель после пропускания через него экстракта промывают 5 мл хлороформа и объединяют с основным экстрактом. Хлороформный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата (помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну), тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 8 мл гексана и очищают на концентрирующем патроне Диапак-С, как указано в п. 2.5.2.2.

После очистки элюат упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.6. Почва

Образец почвы массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл смеси ацетон - вода в соотношении 8:2 и экстрагируют в течение 10 минут на ультразвуковой ванне и 10 минут на механическом встряхивателе. После экстракции пробу центрифугируют в течение 5 минут при скорости 4000 об/мин и супернатант переносят через бумажный фильтр "красная лента" в концентратор объемом 250 мл . Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя по 50 мл смеси ацетон - вода в соотношении 8:2 и экстрагируя 10 минут на ультразвуковой ванне и 10 минут на механическом встряхивателе. После центрифугирования и фильтрования экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 мл и осторожно (вспенивание!) упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не

выше 30°С до водного остатка. К водному остатку в концентраторе добавляют 30 мл щелочного фосфатного буфера, pH и переносят раствор в делительную воронку. Водную фазу в делительной воронке дважды промывают гексаном порциями по 30 мл, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, водный остаток возвращают в делительную воронку. Затем водную фазу в делительной воронке дважды промывают хлороформом порциями по 30 мл, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 минут. После полного разделения фаз нижний хлороформный слой отбрасывают. Водную фазу подкисляют 6М соляной кислотой до pH 3 (по универсальному индикатору). Тритосульфурон из водной фазы экстрагируют тремя порциями хлороформа по 30 мл, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 минут. После полного разделения слоев нижний слой (хлороформ) собирают в концентратор, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°С. Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата (помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну), тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 8 мл гексана и очищают на концентрирующем патроне Диапак-С, как указано в п. 2.5.2.2. После очистки элюат упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов.

2.6.1. Условия хроматографирования.

Хроматограф "Waters" или другой с аналогичными характеристиками с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны.

Колонка стальная Symmetry Shield RP-8, 4,6 мм х 25 см, зернение 5 мкм.

Время удерживания Тритосульфурона - 11,718 – 12,442 мин.

Альтернативная колонка :

Колонка стальная Zorbax SB-C18, 4,6 мм х 25 см, зернение 5 мкм

Время удерживания Тритосульфурона - 9,791 – 10,397 мин.

Температура колонки: 25°С.

Подвижная фаза: ацетонитрил - 0,2% ортофосфорная кислота в соотношении 40:60

Чувствительность 0,005 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 мкл.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2-20 нг.

2.6.2. Обработка результатов анализа.

Содержание Тритосульфурона рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{Sпр \cdot A \cdot V}{100 \cdot Sст \cdot m} \times P$$

где X - содержание Тритосульфурона в пробе, мг/кг или мг/л;

Sст - высота (площадь) пика стандарта, мм;

Sпр - высота (площадь) пика образца, мм;

A - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m - масса анализируемого образца, г (мл);

P - содержание Тритосульфурона в аналитическом стандарте, %.

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, Довгилевич Е.В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Калинина Т.С., ст.н.сотр., канд. с-х. наук, Довгилевич А.В., ст. н. сотр., канд. хим. наук, Устименко Н.В., ст. н. сотр., канд. биол. наук,.

Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева. 127550, Москва, Тимирязевский пр., 2, кафедра химических средств защиты растений. Телефон: 976-43-26.

gost.e-ecolog.ru