УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач

Российской Федерации

Первый заместитель Министра здравоохранения

Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

МУК 4.1. 1469-03

Дата введения: ~~с момента утверждения.~~ 30 июня 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания по определению остаточных количеств Бромуконазола в воде, почве, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур, ягодах черной смородины и винограда методом газожидкостной хроматографии

1.ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

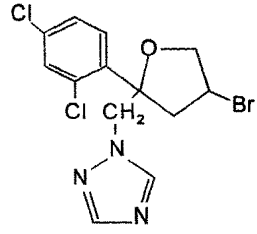
Фирма производитель: Рон-Пуленк

Торговое название: Вектра, Гранит.

Название действующего вещества по номенклатуре ИСО: бромуконазол

Название действующего вещества по номенклатуре ИЮПАК: 1-[(2RS, 4RS: 2RS, 4SR-4-бромо-2-(2,4-дихлорфенил) тетрагидрофуранил] 1*H*-1,2,4 - триазол

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{13}H_{12}BrCl_2N_3O$

Молекулярная масса: 377,1

gost.e-ecolog.ru

Бромуконазол является смесью двух диастереоизомеров (соотношение изомеров 54/46) и представляет собой белый порошок без запаха.

Температура плавления: бромуконазол - 84°С, изомер № 1 (LS 850646) - 91°С, изомер № 2 (LS 850647) - 101°С.

Давление насыщенного пара - $0,04x10^{-5}$ мПа при 25°С.

Коэффициент перераспределения октанол/вода: K_{ow} logP= 3,24 (20 °С).

Растворимость при 20°С в мг/л:

	изомер № 1 (LS 850646)	изомер № 2 (LS 850647)	бромуконазол
вода	72	24	50
циклогексан	8	9	16
толуол	680	210	180
ксилол	460	190	380
этанол	217	89	178
циклогексанон	1460	660	1320
ацетофенон	1270	440	880

Вещество стабильно при хранении в течение года при температуре 15-25 °С, устойчиво в водной среде при любом pH в отсутствие света. Солнечная радиация стимулирует разрушение Бромуконазола в воде в кислой среде с $ДТ_{50}$ = 18 дней.

В почве он хорошо передвигается по профилю и среднестоек с периодом полураспада ($ДТ_{50}$) 4 – 12 недель.

Краткая токсикологическая характеристика: Бромуконазол относится к веществам опасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ крысы –365 мг/кг), малоопасным по дермальной ($ЛД_{50}$ кролики – более 2000 мг/кг) и умеренно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ крысы – 4 часа - более 5000 мг/л). Побочные отрицательные эффекты не обнаружены.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,01 мг/кг массы человека;

ОДК в почве – 0,1 мг/кг;

ПДК в воде водоемов – 0,002 мг/$дм^3$;

ОБУВ в воздухе рабочей зоны при применении – 0,1 мг/$м^3$;

ОБУВ в воздухе атмосферы при применении – 0,005 мг/$м^3$;

МДУ в продукции (мг/кг): зерно хлебных злаков, яблоки, груши, виноград – 0,04; черная смородина – 0,08 (ВМДУ).

Область применения препарата: Бромуконазол - системный фунгицид защитного и лечебного действия из группы триазолов, ингибирующих синтез стеринов. Он эффективно подавляет развитие целого ряда патогенных грибов, включая аскомицеты, базидиомицеты и несовершенные грибы.

Зарегистрирован в России в качестве фунгицида под фирменными названиями:

Вектра, СК, 100 г/л, - против парши и мучнистой росы яблони, оидиума винограда, септориоза, антракноза, американской мучнистой росы смородины с нормой расхода 0,2 - 0,3 л/га, до 4-х обработок за сезон;

Гранит, к.с., 200 г/л., - против мучнистой росы, ржавчины, септориоза, фузариоза колоса зерновых культурах (пшеница яровая, озимая, ячмень яровой, рожь) с нормой расхода 1 л/га. До 2-х обработок за сезон.

2. Методика определения Бромуконазола в воде, почве, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур, ягодах черной смородины и винограда методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Бромуконазола с помощью газожидкостной хроматографии (капиллярные и набивные колонки) с детектором электронного захвата после экстракции органическим растворителем и очистки экстракта перераспределением в хлороформ. Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода.

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при интенсивной технологии выращивания сахарной свеклы. Избирательность метода в значительной степени увеличивается при использовании капиллярной колонки с программированием температуры термостата колонок.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода.

Метрологические характеристики метода приведены в таблицах 1 – 2.

Таблица 1.

Метрологическая характеристика метода.

Метрологические параметры, p=0,95, n=20					
Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг (л)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего результата, %
ИЗОМЕР № 1 (LS 850646)					
вода	0,001	0,001-0,1	107,2	3,4	4,2
почва	0,02	0,02-0,2	79,7	4,1	5,1
зерно	0,04	0,04-0,4	83,6	4,4	5,5
зеленая масса растений	0,04	0,04-0,4	79,8	5,2	6,4
ягоды черной смородины	0,04	0,04-0,4	82,2	2,8	2,36
ягоды винограда	0,04	0,04-0,4	85,4	2,7	2,64
ИЗОМЕР № 2 (LS 850647)					
вода	0,001	0,001-0,1	103,7	3,4	4,8
почва	0,02	0,02-0,2	78,5	4,2	5,6
зерно	0,04	0,04-0,4	76,4	4,8	5,9
зеленая масса растений	0,04	0,04-0,4	72,1	5,1	6,7
ягоды черной смородины	0,04	0,04-0,4	83,4	2,4	2,56
ягоды винограда	0,04	0,04-0,4	85,1	2,8	2,81

Таблица 2.

Полнота определения Бромуконазола в воде, почве, зерне и растениях

Среда	Добавлено Бромуконазола, мг/кг	Обнаружено, мг/кг	Полнота определения, %
1	2	3	4
ИЗОМЕР N 1 (LS 850646)			
вода	0,01	0,0106 ± 0,0006	106,2
	0,02	0,0214 ± 0,0014	107,4
	0,05	0,0540 ± 0,0040	108,1
почва	0,02	0,0155 ± 0,0044	77,6
	0,04	0,0315 ± 0,0083	78,8
	0,08	0,0655 ± 0,0145	81,9
	0,20	0,1610 ± 0,0390	80,5

Продолжение таблицы 2.

1	2	3	4
зерно	0,04 0,08 0,16 0,40	0,0316 ± 0,0082 0,0660 ± 0,0094 0,1395 ± 0,0205 0,3424 ± 0,0574	79,0 82,6 87,2 85,6
растения	0,04 0,08 0,16 0,40	0,0312 ± 0,0086 0,0640 ± 0,0160 0,1300 ± 0,0290 0,3208 ± 0,0790	79,0 82,6 87,2 85,6
ИЗОМЕР N 2 (LS 850647)			
вода	0,01 0,02 0,05	0,0101 ± 0,0001 0,0209 ± 0,0009 0,0527 ± 0,0027	101,1 104,5 105,5
почва	0,02 0,04 0,08 0,20	0,0153 ± 0,0046 0,0317 ± 0,0083 0,0651 ± 0,0149 0,1538 ± 0,0460	76,5 79,3 81,4 76,9
зерно	0,04 0,08 0,16 0,40	0,0295 ± 0,0103 0,0602 ± 0,0197 0,1280 ± 0,0320 0,3072 ± 0,0927	73,8 75,3 80,0 76,8
растения	0,04 0,08 0,16 0,40	0,0284 ± 0,0114 0,0576 ± 0,0223 0,1171 ± 0,0428 0,2888 ± 0,1110	71,0 72,0 73,2 72,2

2.2. Реактивы, материалы, приборы, оборудование.

2.2.1. Реактивы и материалы.

Азот газообразный особой чистоты, ГОСТ 9293-74

Ацетон ч.д.а., ГОСТ 2603-79

Ацетонитрил, ч., ТУ 6-09-3534-87.

Бромуконазол, стандартный раствор в ацетоне с содержанием д.в. 100 мкг/мл (раствор № 1) и 10 мкг/мл (раствор № 2).

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

Кислота хлороводородная (соляная), концентрированная, х.ч., ГОСТ 3118-77.

Кислота соляная, 0,1н р-р

Насадка для хроматографической колонки: Хроматон - N-супер с 5% OV-17 (0,16-0,20), Хемапол ЧССР и Хроматон - N-супер с 3% XE-60 (0,125-0,160), Хемапол ЧССР

Натрия гидроокись, х.ч. ГОСТ 4328-77,

Натрия гидроокись, 4 н р-р

Сульфат натрия безводный, ГОСТ 4166-76

Хлороформ х.ч. ТУ-6-09-4263-76

2.2.2. Приборы, аппаратура, посуда

Аппарат для встряхивания АВУ-1, ТУ-64-1-1091-73

Весы аналитические по ТУ 64-1-1065

Воронки делительные на 250, 500 мл, ГОСТ 25336-82

Воронки химические, ГОСТ 25336-82

Колбы грушевидные на 50 мл, ГОСТ 25336-82

Колбы круглодонные на 500 мл, ГОСТ 25336-82

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

Колбы плоскодонные конические на 100, 250, 500 мл, ГОСТ 25336-82

Мельница для размола образцов, ТУ-46-22-23-79

Микрошприц МШ-10А по ТУ 64-1-2850

Пипетки мерные на 0,1; 1,0 мл, ГОСТ 20292-74

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

Сито металлическое с диаметром отверстий 1-2 мм

Универсальная индикаторная бумага

Фильтры бумажные "синяя лента", ТУ-6-09-1678-77

Хроматограф "ЦВЕТ-106", с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов или "Цвет 550"

Хроматографическая колонка стеклянная, спиральная 1500 х 3 мм, содержащая 5% OV-17 на хроматоне-N-супер (0,16-0,20) или 3% ХЕ-60 на хроматоне N-супер (0,125-0,160);

Хроматограф "Кристалл 2000м" с детектором по захвату электронов

Хроматографическая колонка капиллярная кварцевая HP – 5 (Crosslinked 5% PH ME Siloxane), длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Цилиндры мерные на 30, 100, 250 мл ГОСТ 1770-74

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 хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше +4°С.

Пробы почвы подсушивают при комнатной температуре в отсутствии прямого солнечно-

го света. Растительные образцы для длительного хранения замораживаются и хранятся в холодильнике при -18°С, предварительно определяется содержание влаги. Образцы ягод замораживают и хранят в холодильнике при -18°С не более 1 месяца.

Перед анализом ягоды черной смородины и винограда гомогенизируют (растирают в ступке). Образцы воды фильтруют.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Вода. 500 мл воды помещают в делительную воронку объемом 500 мл и экстрагируют Бромуконазол хлороформом трижды по 150 мл. Объединенный экстракт осушают, пропуская через слой натрия сернокислого безводного и упаривают на ротационном испарителе при температуре не выше 40°С. Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл.

2.5.2. Почва. Навеску почвы 50 г, предварительно просеянной через сито, помещают в колбу объемом 250 мл, увлажняют 10-15 мл воды, заливают 100 мл водно-ацетоновой смеси (1:7) и встряхивают в течение 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 500 мл. Экстракцию повторяют еще дважды. Экстракты объединяют, упаривают на испарителе при t=40°С, до водной фазы. Водную фазу количественно переносят в делительную воронку, пропуская через бумажный фильтр, и Бромуконазол экстрагируют трижды по 30 мл хлороформом, встряхивая делительную воронку в течение 1 минуты. Водную фазу отбрасывают. Объединенный хлороформный экстракт фильтруют, пропуская через безводный сернокислый натрий, упаривают экстракт на ротационном испарителе досуха при t=40°С. Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и хроматографируют. При необходимости экстракт очищают как указано для зерна и растений в разделе 2.5.3.

2.5.3. Зерно, растения. Навеску зерна 25 г, измельченную на электромельнице, а также навеску растений 25 г, измельченную ножницами, помещают в коническую колбу на 500 мл, заливают 100 мл ацетона и встряхивают на встряхивателе в течение 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 500 мл. Экстракцию повторяют еще дважды. Экстракты объединяют, объединенный экстракт упаривают досуха при t=40°С. Остаток в колбе смывают 3 раза по 20 мл 0,1н раствором соляной кислоты и количественно переносят в делительную воронку, пропуская раствор через бумажный фильтр. Подщелачивают раствор 4 н раствором гидроокиси натрия до pH среды 8-9. по индикаторной бумаге. Из щелочной среды Бромуконазол экстрагируют 3 раза хлороформом по 30 мл, встряхивая делительную воронку в течение 1минуты. Водную фазу отбрасывают. Объединенный хлороформный экстракт фильтруют, пропуская через безводный сернокислый натрий, упаривают экстракт на ротационном испарителе досуха при t=40°С.

Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и хроматографируют.

2.5.4. Ягоды черной смородины и винограда

Навеску ягод 25 г, измельченную в ступке, помещают в коническую колбу на 500 мл, заливают 50 мл ацетонитрила и встряхивают на встряхивателе в течение 30 минут. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 500 мл. Экстракцию повторяют еще трижды. Экстракты объединяют, объединенный экстракт упаривают досуха при t=40°С. Остаток в колбе разводят в 50 мл 0,1н раствором соляной кислоты, подщелачивают 4 н раствором гидроокиси натрия до pH среды 8. Из щелочной среды Бромуконазол переэкстрагируют 3 раза хлороформом по 25 м встряхивая делительную воронку в течение 1минуты. Водную фазу отбрасывают. Объединенный хлороформный экстракт фильтруют, упаривают экстракт на ротационном испарителе досуха при t=40°С.

Сухой остаток растворяют в 10 мл ацетона и хроматографируют.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов.

2.6.1. Условия хроматографирования

2.6.1.1. Почва, зерно и зеленая масса зерновых колосовых культур

Хроматограф газовый с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов ^{63}Ni "Цвет - 106" с пределом детектирования по Линдану не выше 4 10^{-14} или другой аналогичного типа.

Неподвижная фаза –5% OV-17 на Хроматоне-N-супер (0,16-0,20).

Колонка стеклянная, спиральная, 1500 х 3 мм

Температура: термостата колонки – 250°С

термостата испарителя – 280°С

термостата детектора - 290°С

Скорость газа-носителя - азота –50 мл/мин

Объем, вводимый в испаритель – 1 мкл.

Линейность детектирования – 1-10 нг

Время удерживания – изомера № 1 (LS 850646) - 6 мин.45 сек.;

изомера № 2 (LS 850647) - 5 мин. 15 сек.

Рабочая шкала электрометра - 10^{-12}А.

Скорость протяжки ленты самописца - 200 мм/час.

Хроматограф газовый с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов ^{63}Ni "Цвет - 550" с пределом детектирования по Линдану не выше 4 10^{-14}

Неподвижная фаза – 3% ХЕ-60 на Хроматоне N-супер (0,125-0,160)

Колонка стеклянная, спиральная, 1500 х 3 мм

Температура: термостата колонки – 230°С

термостата испарителя – 280°С

термостата детектора - 290°С

Скорость газа-носителя - азота –30 мл/мин

Объем, вводимый в испаритель – 1 мкл.

Линейность детектирования – 1-10 нг

Время удерживания – изомера № 1 (LS 850646) - 6 мин.45 сек.;

изомера № 2 (LS 850647) - 5 мин. 15 сек.

Рабочая шкала электрометра - 10^{-12}А.

Скорость протяжки ленты самописца - 200 мм/час.

Каждую анализируемую пробу вводят в колонку хроматографа 3 раза. Образцы, дающие пики выше стандартного пика, разбавляют.

2.6.1.2. Вода, ягоды черной смородины, винограда

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

Неподвижная фаза – Crosslinked 5% PH ME Siloxane

Колонка капиллярная кварцевая НР – 5, длина 15 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм.

Температура: термостата колонки – 260°С

термостата испарителя – 280°С

термостата детектора - 340°С

Газ 1: тип регулятора расхода газа РРГ 11, давление 82,58 кПа

Газ 2 (гелий) - 50 мл/мин: режим нормальный, расход 0,5 мл/мин, сброс 1:100

Газ 3 (азот, поддув детектора) - 30 мл/мин.

Объем, вводимый в испаритель – 1 мкл.

Время удерживания – изомера N 1 (LS 850646) - 8 мин.28 сек.;

изомера N 2 (LS 850647) - 9 мин. 19 сек.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю площадь пика. Образцы, дающие пики больше, чем стандартный раствор с концентрацией 0,1 мкг/мл, разбавляют.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Количественный расчет двух изомеров Бромуконазола в анализируемой пробе проводят по следующей формуле:

$$X = \frac{C \times H_2 \times V_2}{H_1 \times V_1 \times P}, \text{ где}$$

X - содержание изомера Бромуконазола в пробе, мг/кг

C - количество изомера Бромуконазола в стандартном растворе, введенном в хроматограф, мкг

H_1 - высота пика стандартного раствора, введенного в хроматограф, мм

H_2 - высота пика изомера Бромуконазола в анализируемой пробе, мм

V_1 - объем экстракта, введенного в хроматограф, мкл

V_2- объем экстракта анализируемой пробы, мкл

P - масса анализируемой пробы, г или мл

3. Требования техники безопасности

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

4. Разработчики:

Кивачицкая М.М., Скурьят А.Ф., Карченя Г.К., БелНИИЗР, п.Прилуки, Минский р-он.

Калинин В.А., профессор, канд. с-х. наук; Калинина Т.С., ст.н.сотр., канд. с-х. наук; Рыбакова О.И., .н.сотр.

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