«УТВЕРЖДАЮ»
Главный Государственный санитарный врач РФ,
Первый зам. Министра здравоохранения РФ
_____ Г.Г. Онищенко
«__5__» ____мая____ 2004 г.

МУК 4.1. 1855-04

Дата введения: с 1 июля 2004 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ЦИМОКСАНИЛА В ТОМАТАХ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1. Вводная часть

Фирма производитель: ЗАО Фирма «Август»
Торговое наименование: Ордан
Действующее вещество: цимоксанил (ISO).
Структурная формула:



1-(2-циано-2метоксииминоацетил)-3-этилмочевина (IUPAC).

Брутто формула: $C_7H_{10}N_4O_3$
Мол. Масса: 198.2
Химически чистый препарат – бесцветное кристаллическое вещество.
Температура плавления: 160°С
Давление паров при 20°С – $15x10^{-2}$ mPa
Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 0,59 (pH 5); 0,67(pH 7)
Константа Генри – $3,8x10^{-5}$ (pH 7), $3,3x10^{-5}$(pH 5).
Растворимость в воде при 20°С – 890 мг/л (pH 5); в ацетоне – 62,4 г/л; в ацетонитриле – 57 г/л; в этилацетате – 28 г/л; н-октаноле – 1,43 г/л; метаноле – 22,9 г/л.
Вещество стабильно в интервале pH 2-7,3, в щелочных растворах быстро разлагается.
DT_{50}=1.8 дня; pKa=9,7

gost.e-ecolog.ru

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая оральная токсичность (LD_{50}) для крыс =960 мг/кг,
Острая дермальная токсичность (LD_{50}) › 2000 мг/кг.
Острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) › 5060 мг/м^3.
Не раздражает слизистую глаз и легко раздражает кожу кроликов.
LC_{50} (96 часов) для рыб – 61 мг/л (радужная форель); 91 мг/л (карп)
LC_{50} (48 часов) для дафний – 27 мг/л
Не токсичен для пчел: LD_{50} (48 часов контактно)> 25 мкг/пчелу
LD_{50} (48 часов орально)> 1000 мкг/пчелу
Черви: LC_{50} (14 дней) > 2208 мг/кг почвы
Класс токсичности по ВОЗ – III (д.в.), ЕПА – III (преп. форма).

В России установлены следующие гигиенические нормативы для цимоксанила:
ДСД – 0,02 мг/кг, ОДК в почве – 0,04 мг/кг; ПДК в воде – 0,3 мг/л (орг.); ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м^3; в атмосферном воздухе - 0,003 мг/м^3
МДУ (мг/кг) в картофеле, огурцах – 0,05; ВМДУ (мг/кг) в томатах и винограде – 0,1.

Область применения:

Контактный фунгицид с местным системным эффектом, обладающий защитным и лечащим действием. Высокоактивен против грибов, вызывающих фитофтороз и пероноспороз, не действует на возбудителей настоящей мучнистой росы. Длительность защитного действия составляет 4-6 дней, поэтому рекомендуется его использование в смеси с другими фунгицидами защитного контактного действия.

2. Методика определения цимоксанила в томатах методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении цимоксанила с помощью газожидкостной хроматографии при использовании термоионного детектора на неподвижной фазе ХЕ-60 после экстракции органическим растворителем, очистки экстракта путем перевода действующего вещества в водную фазу и повторной экстракции органическим растворителем. Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода

В условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании томатов (дитиокарбаматы, пиретроиды и др.).

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Объект анализа	Предел обнаружения мг/кг	Диапазон определяемых концентраций мг/кг	Среднее значение определения, % (для каждого объекта n=24)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, n=24, P=0.95
томаты	0,025	0.025 - 0.250	82.0	6.5	6.0

Таблица 2

Полнота определения цимоксанила в томатах (N=5 для каждой концентрации)

Среда	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, S, мг/кг	Доверительный интервал, (P=0.95, n=6),%	Полнота определения, %
томаты	0.025	0.023	0.002	7.9	80.2
	0.050	0.047	0.002	5.8	81.4
	0.100	0.094	0.005	5.7	82.6
	0.250	0.238	0.010	4.6	84.0

2.2. Реактивы и материалы

Аналитический стандарт цимоксанила 99.4%
Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79.
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.
Натрий сернокислый, безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76, свежепрокаленный.
Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-79.
Соляная кислота, ГОСТ 857-88, 0,1 н раствор.
Хлороформ, ГОСТ 20015-74.
Насадка для колонки: 5% ХЕ-60 на хроматоне N-Super, размер частиц 0,125-0,160 мм, Хемопол (Чехия).
Азот газообразный особой чистоты, ГОСТ 9293-74.
Водород технический. ГОСТ 3022-70.
Воздух. ГОСТ 11882-73.

2.3. Приборы и посуда

Газовый хроматограф Цвет-500 или аналогичный.
Установка ультразвуковая "Серьга" УЗМ002 или аналогичная.
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.

Водоструйный насос, ГОСТ 10696-75
Баня водяная, ТУ 46-22-603-75
Колбы круглодонные на 100 и 250 мл. КПШ-100, КПШ-250, , ГОСТ 10394-72.
Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75
Воронки делительные на 250 мл, ГОСТ 10054-75.
Концентраторы конические НШ29 КГУ 100-14/19, ТС, ГОСТ 10394-72
Пипетки мерные на 0,1; 1,0; 5,0; 10 и 25 мл ГОСТ 20292-74
Стаканы стеклянные на 100 мл, ГОСТ 6236-72
Колбы мерные на 25, 50, 100 $см^3$, ГОСТ 1770-74.
Фильтры бумажные «Красная лента» ТУ 6-09-1678-86

2.4. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79). Отобранные пробы хранят в морозильной камере при –18°С в течение 10 месяцев.

2.5. Подготовка к определению
2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют.

Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. Для этого 100 мл растворителя испаряют с помощью вакуумного ротационного испарителя при температуре 40°С до объема 1 мл и хроматографируют. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

2.5.2. Кондиционирование колонки

Готовую насадку (5% ХЕ-60 на хроматоне N-AW) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и выдерживают при температуре 220°С в течение 8 часов в токе азота.

2.5.3. Приготовление стандартного и градуировочных растворов

Основной раствор цимоксанила готовят, количественно перенося 10 мг аналитического стандарта в мерную колбу на 100 мл, растворяют навеску в ацетоне. Из полученного раствора с концентрацией 100 мкг/мл готовят рабочие растворы с концентрациями 2.0 мкг/мл, 4.0 мкг/мл, 8.0 мкг/мл, 20 мкг/мл последовательным разведением в ацетоне.
Для внесения цимоксанила в образец при определении полноты извлечения используют соответствующий стандартный раствор в ацетоне.

2.5.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика зависимости высоты (площади) пика от концентрации цимоксанила в растворе в хроматограф вводят по 2 мкл градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют высоты (площади) пиков и строят

график зависимости среднего значения высоты, мм (площади, мв/сек) пика от концентрации цимоксанила в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.5.5. Подготовка приборов и средств измерения.

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения проводится в соответствии с требованиями стандартов и технической документации.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Экстракция и очистка экстракта

Навеску (40 г) измельченных томатов помещают в коническую колбу на 250 мл, заливают 50 мл этилацетата и экстрагируют цимоксанил на ультразвуковой бане в течение 15 мин. Затем раствор методом декантации переносят в делительную воронку через фильтр «красная лента». После разделения слоев нижнюю водную фракцию помещают в колбу для повторной экстракции, верхний слой этилацетата собирают в концентратор.
Повторно экстрагируют цимоксанил 50 мл этилацетата. Органический экстракт объединяют, добавляют в концентратор 20 мл дистиллированной воды и отгоняют этилацетат на роторном вакуумном испарителе при температуре не выше 50°С.

2.6.2. Очистка экстракта

Водный экстракт помещают в делительную воронку, ополаскивая концентратор 30 мл воды. Добавляют в воронку 20 мл хлороформа и интенсивно встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний хлороформный слой собирают в стакан объемом 100 мл. Экстракцию повторяют дважды, используя по 20 мл хлороформа. Объединенный хлороформный экстракт помещают в делительную воронку, добавляют туда 10 мл 0,1 н соляной кислоты и интенсивно встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний хлороформный слой собирают в конический концентратор, пропуская его через слой безводного сернокислого натрия. Осушитель ополаскивают 10 мл хлороформа. Экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50°С. Последние капли растворителя удаляют током азота. Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и 2 мкл раствора вводят в хроматограф.

2.6.3. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Цвет-500М» с ТИД (азотным) или аналогичный с пределом детектирования не выше $5x10^{-13}$ г/см^3 по азоту в азобензоле.
Шкала электрометра $16x10^9$.
Колонка стеклянная, длина 1 м, внутренний диаметр 3 мм. Носитель – Хроматон N-Super, размер частиц 0,125-0,160 мм, неподвижная фаза 5% ХЕ-60.
Температура термостата колонки 170°С, детектора 390°С, испарителя 340°С.
Расход водорода – 16, азота – 38, воздуха – 200 мл/мин.
Объем пробы, вводимой в испаритель – 2 мкл.
Абсолютное время удерживания цимоксанила – 1 мин 40 сек.

2.6.4. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки, содержание цимоксанила в образце томатов (Х, мг/кг) вычисляют по формуле:

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

где H_1– высота (площадь) пика цимоксанила в стандартном растворе, мм;
H_2 – высота (площадь) пика цимоксанила в анализируемой пробе, мм;
V – объём экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;
P – навеска анализируемого образца, г;
C – концентрация цимоксанила в стандартном растворе, мкг/мл.
Содержание остаточных количеств цимоксанила в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2-х параллельных определений.
Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 20 мкг/мл, разбавляют.

3. Требования техники безопасности

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

4. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости результатов измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335-95. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа.

5. Разработчики

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

gost.e-ecolog.ru