УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель
Министра здравоохранения
Российской Федерации

Г.Г. Онищенко

«04» 04 2004 г.

Дата введения: с 1 мая 2004 г

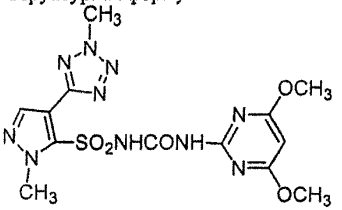
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Методические указания по определению остаточных количеств азимсульфурона в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания
## МУК 4.1. 1872 – 04

### 1. Вводная часть

Фирма производитель: Дюпон де Немур
Торговое название: Гулливер
Название действующего вещества по ИСО: Азимсульфурон
Название действующего вещества по ИЮПАК:
1-(4,6-диметокси-пиримидин-2-ил)-3-[2-метил-4-(2-метил-2Н-тетразол-5-ил)-2Н-пиразол-3-сульфонил]-мочевина
Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{13}H_{16}N_{10}O_5S$

Молекулярная масса: 424,4

Химически чистый Азимсульфурон представляет собой белый кристаллический порошок.

Температура плавления: 170°С.

Давление паров $4,0 \times 10^{-6}$ мПа (при $25^0$С)

Коэффициент распределения октанол-вода Kow logP: 0,646 (pH 5), -1,37 (pH 7), -2,08 (pH 9)

Растворимость в воде (мг/л, $20^0$С): 72.3 (pH 5); 1050 (pH 7); 6536 (pH 9)



gost.e-ecolog.ru

Растворимость в органических растворителях (мг/л при 25°С): ацетон – 26,4, ацетонитрил - 13,0, этилацетат – 13,0, гексан <0,2, метанол – 2,1, хлористый метилен - 65,9.

Константа диссоциации pKa (при 25°С) – 3.6

Вещество медленно гидролизуется в водных растворах, $DT_{50}$ (сутки, при 25°С) 89 (pH 5), 124 (pH 7), 132 (pH 9).

Азимсульфурон разлагается в почве в результате фотолиза, почвенного метаболизма и химического гидролиза. $DT_{50}$ в затопленной почве составляет 25 суток (при 25°С), $DT_{50}$ во влажной почве 18 – 134 суток в зависимости от температуры и степени увлажнения.

Быстро разлагается в растениях.

Из организмов теплокровных > 95% азимсульфурона выводится в течение двух суток, 60-73% от этого количества - в неизменном виде.

Краткая токсикологическая характеристика: Азимсульфурон относится к малоопасным соединениям по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс составляет более 5000 мг/кг), дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов более 2000 мг/кг) и умеренно опасным по ингаляционной ($ЛК_{50}$,4 часа, для крыс более 5900 мг/м$^3$) токсичности. Не раздражает кожу и слизистую оболочку глаз (кролики, гвинейские свиньи).

Область применения препарата: Азимсульфурон – избирательный гербицид системного действия, проникающий, в основном, через листья растений и ингибирующий активность ацетолактасинтетазы, участвующей в биосинтезе лейцина, изолейцина и валина. Избирательность действия определяется различиями в скорости метаболизма гербицида в растении. Рекомендуется в качестве послевсходовый гербицида для подавления однодольных (просовидные) и некоторых двудольных сорняков в посевах риса при норме расхода 20 – 25 г д.в./га.

В России проходит регистрационные испытания в качестве гербицида в посевах риса под фирменным названием Гулливер, ВДГ, 500 г/кг, с нормой расхода 20 - 30 г препарата/га при однократной обработке культуры в фазы от 3 листа до кущения.

## 2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АЗИМСУЛЬФУРОНА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, ЗЕРНЕ И СОЛОМЕ РИСА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1.Принцип метода

Методика основана на определении Азимсульфурона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта путем перераспределения между двумя несмешивающимися жидкими фазами и на концентрирующих па-

тронах на основе силикагеля (Диапак-С). Идентификация веществ 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 | 84,29 | 0,111 | 84,29 ± 0,52 |
| Почва | 0,010 | 0,010 - 0,100 | 80,85 | 0,040 | 80,85 ± 1,86 |
| Зерно | 0,010 | 0,010 - 0,100 | 82,69 | 0,046 | 82,69 ± 2,16 |
| Солома | 0,020 | 0,020 - 0,200 | 84,43 | 0,051 | 84,43 ± 2,38 |

Таблица 2

Полнота определения Азимсульфурона в воде, почве, зерне и соломе риса

(5 повторностей для каждой концентрации).

| Среда | Внесено, мг/кг (мг/л) | Обнаружено, мг/кг (мг/л) | Доверительный интервал мг/кг (мг/л), ± | Полнота определения, % |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Вода | 0,005 | 0,00420 | 0,00003 | 84,0 |
| | 0,010 | 0,0084 | 0,0002 | 84,2 |
| | 0,020 | 0,0169 | 0,0002 | 84,5 |
| | 0,050 | 0,0422 | 0,0011 | 84,4 |
| Почва | 0,010 | 0,0082 | 0,0003 | 82,0 |
| | 0,020 | 0,0152 | 0,0008 | 75,9 |
| | 0,050 | 0,0413 | 0,0018 | 82,7 |
| | 0,100 | 0,0828 | 0,0020 | 82,8 |
| Зерно | 0,010 | 0,0082 | 0,0004 | 82,3 |
| | 0,020 | 0,0165 | 0,0007 | 82,5 |
| | 0,050 | 0,0415 | 0,0056 | 83,0 |
| | 0,100 | 0,0829 | 0,0018 | 82,9 |
| Солома | 0,020 | 0,0165 | 0,0008 | 82,3 |
| | 0,040 | 0,0325 | 0,0009 | 81,2 |
| | 0,100 | 0,0860 | 0,0071 | 86,0 |
| | 0,200 | 0,1731 | 0,0128 | 86,5 |

2.1.3. Избирательность метода.

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

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование.

2.2.1. Реактивы, растворы и материалы.

Азимсульфурон, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,3%, фирма Дюпон

Ацетонитрил, ТУ 6-09-3534-87 или для ВЭЖХ «В-230НМ».

Вода деионизированная бидистиллированная ГОСТ 6709-79.

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72.

Гексан, х.ч., ТУ 6-09-3375-78.

Калий фосфорнокислый однозамещенный, ГОСТ 4198-75.

Калия перманганат, ч.д.а. ГОСТ 20490-75.

Кислота орто-фосфорная, х.ч., ГОСТ 6552-80 или 85%, Fluka, 79621.

Кислота серная, концентрированная, х.ч., ГОСТ 4204-77

Кислота уксусная, ледяная, ГОСТ 61-75

Магния сульфат, ГОСТ 4523-67

Метилен хлористый (дихлорметан), ГОСТ 12794-80.

Натрия гидроксид (едкий натр), гранулированный, х.ч. ГОСТ 4328-77.

Натрия сульфат (натрий сернокислый), безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76.

Натрия хлорид (натрий хлористый), ГОСТ 4233-77.

Патроны концентрирующие Диапак-С (0,6 г) ТУ 4215-002-05451931-94

Хлороформ (трихлорметан), ч., ГОСТ 20015-74

Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), ГОСТ 223000-76

Фильтры бумажные, ТУ 6-09-1678-77.

2.2.2. Приборы, оборудование и посуда.

Хроматограф жидкостной Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,0050 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, Symmetry Shield RP-18, зернение 5 мкм, фирма Уотерс.

Аллонж прямой с отводом для вакуума (для работы с концентрирующими патронами).

Баня водяная, ТУ 64-1-2850-76.

Ванна ультразвуковая «Серьга» ТУ 3.836.008 или аналогичная.

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 500 и 250 мл, ГОСТ 25336-82 Е.

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

Встряхиватель механический, ТУ 64-673М или аналогичный.

Иономер (рН-метр-милливольтметр) рН-150М, ГОСТ 22261, с электродами:

стеклянным лабораторным ЭСЛ-43-11 (ЭСЛ-45-11, ЭСЛ-48-11) ТУ 25-05(1Е2.840.516)-78, и

хлорсеребряным ЭВЛ-1М4 ТУ 25-05(1Е2.840.517)-78, или аналогичными.

Испаритель ротационный вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-76 или аналогичный.

Колбы круглодонные со шлифами, ГОСТ 9737-70.

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

Колбы плоскодонные конические со шлифами, ГОСТ 9737-70.

Мельница лабораторная электрическая, ТУ 46-22-236-84, или аналогичная.

Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50-100 мкл.

Насос вакуумный водоструйный, ГОСТ 25336-82 Е.

Палочки стеклянные, ГОСТ 25336-82Е.

Пипетки на 1, 2, 5 и 10 мл, ГОСТ 22292-74.

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

Стеклянный холодильник с прямой трубкой, ГОСТ 9737-70.

Центрифуга, МРТУ 42-219-69.

Цилиндры мерные на 25, 50, 100 и 500 мл, ГОСТ 1770-74 Е.

2.3. Подготовка к определению.

2.4.1. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии.

Колонку Symmetry Shield RP-8 или Symmetry Shield RP-18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25°С и скорости потока подвижной фазы 1,0 мл/мин в течение 3-4 часов.

2.3.2. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии.

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и деионизированную бидистиллированную воду.

2.3.2.1. Приготовление деионизированной бидистиллированной воды.

Бидистиллят из дистиллятора заливают в круглодонную колбу подходящего объёма, кипятят в течение 6 часов с перманганатом калия, добавленным из расчета 1 г/л, и затем перегоняют.

2.3.2.2. Приготовление 0,3-% раствора орто-фосфорной кислоты.

В мерную колбу на 1000 мл помещают 3 мл концентрированной ортофосфорной кислоты и доводят объём до метки деионизированной бидистиллированной водой.

2.3.2.3. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 450 мл ацетонитрила и 550 мл 0,3-% 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.

2.3.3. Приготовление стандартных растворов.

Взвешивают 0,050 г Азимсульфурона в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в хлористом метилене и доводят объем до метки хлористым метиленом (Стандартный раствор №1 с концентрацией 1 мг/мл). Стандартный раствор № 1 можно хранить в холодильнике в течение 6 месяцев.

Отбирают 10 мл стандартного раствора №1, переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят объём до метки ацетонитрилом (Стандартный раствор №2 с концентрацией 100 мкг/мл). Стандартный раствор № 2 можно хранить в холодильнике в течение 3 месяцев.

2.3.4. Построение градуировочного графика.

Для построения градуировочного графика (площадь пика - концентрация Азимсульфурона в растворе) методом последовательного разбавления ацетонитрилом из стандартного раствора Азимсульфурона в ацетонитриле № 2 готовят градуировочные растворы с концентрациями 0,05; 0,10; 0,20 и 0,50 мкг/мл. Вводят в хроматограф по 20 мкл из соответствующих градуировочных растворов:

Измеряют площадь пиков (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации). Строят графики зависимости площади хроматографического пика от концентрации Азимсульфурона.

2.3.5. Подготовка органических растворителей.

Перед началом анализа проверяют чистоту гексана, этилацетата, хлористого метилена и хлороформа. Для этого досуха выпаривают на ротационном вакуумном испарителе 100 мл растворителя, отдувают остатки паров растворителей током холодного воздуха. Добавляют в концентратор 2 мл ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют при 245 нм. При недостаточной чистоте растворителей проводят их очистку.

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 и хлористый метилен 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 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 сульфатом магния, предварительно прокаленным до полного удаления кристаллизационной воды, и затем перегоняют.

2.3.6. Приготовление растворов для проведения анализа

2.3.6.1. Приготовление щелочного фосфатного буфера - 0,05 М раствор однозамещенного фосфорнокислого калия, pH 9.

В мерную колбу объемом 1000 мл помещают 800 мл дистиллированной воды и растворяют в ней 8,75 г гидрофосфата калия и 100 г хлорида натрия, доводят pH (по pH-метру) до 9, используя 1М раствор гидроксида натрия, после чего доводят раствор до метки дистиллированной водой.

2.3.6.2. Приготовление 0,2% растворов уксусной кислоты в этилацетате.

В мерную колбу объемом 100 мл помещают 50 мл этилацетата и туда же добавляют 0,2 мл ледяной уксусной кислоты и доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивая. Раствор используют для элюирования Азимсульфурона с концентрирующий патрона Диапак-С.

2.3.7. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-С и работа с ним.

2.3.7.1. 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 аллонж с прямым 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. После промывки нельзя допускать высыхания поверхности концентрирующий патрона!

2.3.7.2. Проверка хроматографического поведения Азимсульфурона на концентрирующем патроне Диапак-С.

При отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов проводят изучение хроматографического поведения Азимсульфурона на патроне. Для этого из стандартного раствора Азимсульфурона в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/мл, отбирают 1 мл, помещают в круглодонную колбу объемом 100 мл и выпаривают 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 концентрирующий патрон, предварительно подготовленный, как указано в разделе 2.3.7.1. Концентратор тщательно обмывают 5 мл смеси гексан-этилацетат в соотношении 8:2 и смесь также вносят на концентрирующий патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 секунд в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют.

Концентрирующий патрон высушивают под вакуумом в течение 2 минут. Азимсульфурон элюируют с патрона 10 мл 0,2% раствора уксусной кислоты в этилацетате, порциями по 5 мл. Элюат после внесения каждой порции выпаривают 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. Определяют фракции, содержащие Азимсульфурон, и объединяют их.

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 воды анализируются в день отбора или могут храниться в холодильнике при +4°С в течение 3 дней. Отобранные пробы зерна и соломы подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при комнатной температуре. Замороженные образцы зеленой массы хранят в морозильной камере при температуре не выше 18 °С.

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, зерно и солому измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Описание определения.

2.5.1. Вода.

2.5.1.1. Экстракция и предварительная очистка.

Пробу воды объемом 100 мл фильтруют через бумажный фильтр «красная лента». Добавляют к пробе по каплям концентрированную ортофосфорную кислоту строго до pH

1,7-1,8 (по pH-метру). Переносят пробу воды в делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют 5-7 г кристаллического хлорида натрия. Интенсивно встряхивают делительную воронку до полного растворения хлорида натрия.

Экстрагируют Азимсульфурон из воды 40 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивая воронку в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний метиленхлоридный слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 30 мл хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на роторном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 35°С. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 минут. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетонитрила и вводят в хроматограф 20 мкл пробы.

2.5.1.2. Очистка на концентрирующем патроне.

В случае недостаточной чистоты анализируемых проб воды можно использовать процедуру очистки на концентрирующем патроне Диапак-С. 2.3.7.3.

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 концентрирующий патрон. Концентратор тщательно обмывают 5 мл смеси гексан-этилацетат в соотношении 8:2 и смесь также вносят на концентрирующий патрон. Элюат отбрасывают.

Концентрирующий патрон высушивают под вакуумом в течение 2 минут. Азимсульфурон элюируют с патрона 5 мл 0,2% уксусной кислоты в этилацетате, элюат выпаривают 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 после растворения нежелательно упаривать и повторно перерастворять, так как при этом уменьшается полнота определения Азимсульфурона. Нежелательно также хранить очищенную пробу в холодильнике в виде раствора, так как при этом происходит разрушение элементов анализируемой матрицы, что приводит к значительному уменьшению чистоты пробы и изменению типовой картины.

2.5.2. Почва.

Образец почвы массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл смеси ацетонитрила с водой в соотношении 8:1. Экстрагируют Азимсульфурон на ультразвуковой ванне в течение 10 минут и на встряхивателе в течение 10 минут. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 мл смеси ацетонитрил - вода в соотношении 8:1, экстрагируя на ультразвуковой ванне по 5 минут и на встряхивателе по 10 минут. Экстракты

центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин. Супернатанты фильтруют в концентратор объемом 250 мл через фильтр "красная лента". Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35°С до водного остатка.

В концентратор добавляют 80 мл щелочного фосфатного буфера (pH 9). Тщательно обмывают стенки и содержимое концентратора переносят в делительную воронку на 250 мл.

Добавляют в делительную воронку 40 мл хлороформа, плотно закрывают пробку и плавно встряхивают в течение 1 минуты. Оставляют в покое до полного разделения слоёв. Нижний хлороформный слой отбрасывают. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру промывки экстракта еще два раза, используя по 30 мл хлороформа.

После завершающей промывки верхний слой собирают в химический стакан, в который добавляют по каплям концентрированную ортофосфорную кислоту строго до pH 1,7-1,8 (по pH-метру). Переносят пробу в чистую делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют 5 г кристаллического хлорида натрия. Интенсивно встряхивают делительную воронку до полного растворения хлорида натрия.

Экстрагируют Азимсульфурон из воды 40 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивая воронку в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний метиленхлоридный слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 30 мл хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на роторном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 35°С. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 минут.

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

2.5.3. Зерно риса.

Образец размолотого зерна массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл этилацетата, экстрагируют на ультразвуковой ванне в течение 10 минут и на встряхивателе в течение 15 минут. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 мл этилацетата, экстрагируя на ультразвуковой ванне по 10 минут. Экстракт центрифугируют при 4000 об/мин, супернатант фильтруют в концентратор объемом 250 мл через фильтр

"красная лента". Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35°С до объёма приблизительно 1 мл.

В концентратор добавляют 100 мл щелочного фосфатного буфера (pH 9). Тщательно обмывают стенки и содержимое концентратора переносят в делительную воронку на 250 мл.

Добавляют в делительную воронку 40 мл хлороформа, плотно закрывают пробку и плавно встряхивают в течение 1 минуты. Оставляют в покое до полного разделения слоёв. Нижний хлороформный слой отбрасывают. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру промывки экстракта еще два раза, используя по 30 мл хлороформа. После завершающей промывки верхний слой собирают в химический стакан, в который добавляют по каплям концентрированную ортофосфорную кислоту строго до pH 1,7-1,8 (по pH-метру). Переносят пробу в чистую делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют 5-7 г кристаллического хлорида натрия. Интенсивно встряхивают делительную воронку до полного растворения хлорида натрия.

Экстрагируют Азимсульфурон из воды 40 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивая воронку в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний метиленхлоридный слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 30 мл хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на роторном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 35°С. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 минут.

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

2.5.4. Солома риса.

Образец размолотой соломы массой 5 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 1 мл дистиллированной воды, 100 мл этилацетата, экстрагируют на ультразвуковой ванне в течение 10 минут и на встряхивателе в течение 15 минут. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 мл этилацетата. Экстрагируют на ультразвуковой ванне по 10 минут. Экстракты фильтруют в концентратор объемом 250 мл через фильтр "красная лента". Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35°С до объёма приблизительно 1 мл.

В концентратор добавляют 100 мл щелочного фосфатного буфера (pH 9). Тщательно обмывают стенки и содержимое концентратора переносят в делительную воронку на 250 мл.

Добавляют в делительную воронку 40 мл хлороформа, плотно закрывают пробку и плавно встряхивают в течение 1 минуты. Оставляют в покое до полного разделения слоёв. Нижний хлороформный слой отбрасывают. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру промывки экстракта еще два раза, используя по 30 мл хлороформа. После завершающей промывки верхний слой собирают в химический стакан, в который добавляют по каплям концентрированную ортофосфорную кислоту строго до pH 1,7-1,8 (по pH-метру). Переносят пробу в чистую делительную воронку емкостью 250 мл. Добавляют 5-7 г кристаллического хлорида натрия. Интенсивно встряхивают делительную воронку до полного растворения хлорида натрия.

Экстрагируют Азимсульфурон из воды 40 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивая воронку в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний метиленхлоридный слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя каждый раз по 30 мл хлористого метилена.

Объединенный экстракт выпаривают на роторном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 35°С. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 минут.

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. 2.5.1.2. После очистки элюат выпаривают 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-18, 4,6 мм х 25 см, зернением 5 мкм или альтернативная колонка Symmetry Shield RP-18, 4,6 мм х 25 см, зернением 5 мкм.

Температура колонки: 25°С.

Подвижная фаза: ацетонитрил - 0,3% ортофосфорная кислота в соотношении 45:55

Рабочая длина волны детектора 245 нм.

Чувствительность 0,005 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 мкл.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 1-10 нг.

2.6.2. Обработка результатов анализа.

Содержание Азимсульфурона рассчитывают по формуле:

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

где X - содержание Азимсульфурона 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 Азимсульфурона 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 А.В., ст. н. сотр., канд. хим. наук, Довгилевич Е.В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Быков К.В., науч. сотр.

Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева. Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976- 43-26.

gost.e-ecolog.ru