Государственное
санитарно-эпидемиологическое
нормирование
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 4.1.1025—1026—01
МУК 4.1.1130—1152—02
МУК 4.1.1154—1165—02

Выпуск 1

МОСКВА
2004

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 4.1.1025—1026—01;
МУК 4.1.1130—02—4.1.1152—02;
МУК 4.1.1154—02—4.1.1165—02

Выпуск 1

ББК 51.23
О60
О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава Росси, 2004.—352 с.

ISBN 5—7508—0491—7

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (чл.-корр. РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева (проф. В. А. Калинин, к. хим. н. Довгилевич А. В.); Всероссийским НИИ фитопатологии (А. М. Макеев и др.); Всероссийским НИИ защиты растений (В. И. Долженко и др.); Санкт-Петербургским НИИ лесного хозяйства (Маслаков С. Е., Л. В. Григорьева и др.), при участии Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России (А. П. Веселов).

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Минздраве России.

3. Утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 5—7508—0491—7

© Минздрав России, 2004
© Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004

Содержание

Измерение концентраций Ципродинила в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1025—01 5
Определение остаточных количеств Ципродинила в воде, почве, яблоках, грушах и косточковых методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1026—01 13
Определение остаточных количеств Ацетамиприда в воде, почве, огурцах, томатах, клубнях и ботве картофеля, зерне и соломе пшеницы и в кормовом разнотравье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1130—02 22
Измерение концентрации Ацетамиприда в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1131—02 36
Определение остаточных количеств 2,4-Д в воде, зерне, соломе зерновых культур и зерне кукурузы методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1132—02 42
Определение остаточных количеств этилгексилового эфира 2,4-Д в воде методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1133—02 52
Измерение концентраций этилгексилового эфира 2,4-Д в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1134—02 57
Определение остаточных количеств карфентразон-этила в воде и его метаболита карфентразона в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1135—02 64
Измерение концентраций карфентразон-этила методом газожидкостной хроматографии в воздухе рабочей зоны: МУК 4.1.1136—02 76
Определение остаточных количеств Квизалофоп-П-тефурила по его основному метаболиту квизалофоп-свободной кислоте в воде, почве, в семенах и масле льна, сои, подсолнечника и в соломке льна методом газожидкостной хроматографии МУК 4.1.1137—02 82
Определение остаточных количеств Квизалофоп-П-тефурила и его метаболитов в клубнях картофеля, ботве и корнеплодах сахарной и столовой свеклы, моркови и луке методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1138—02 100
Измерение концентраций Квизалофоп-П-тефурила в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1139—02 111
Определение остаточных количеств Люфенурона в воде, почве, яблоках и клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1140—02 118
Измерение концентраций Люфенурона в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1141—02 128
Определение остаточных количеств Тиаметоксама и его метаболита (ЦГА 322704) в воде, почве, картофеле, зерне и соломе зерновых колосовых культур, яблоках, огурцах, томатах, перце, баклажанах, горохе и сахарной свекле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1142—02 134
Измерение концентраций Тиаметоксама методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе: МУК 4.1.1143—02 148
Определение остаточных количеств Трифлусульфурон-метила в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1144—02 155
Измерение концентраций Трифлусульфурон-метила в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1145—02 166

Определение остаточных количеств Фамоксадона в воде, почве, клубнях картофеля, зеленой массе, соломе и зерне зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1146—02 174
Измерение концентраций Фамоксадона (ДРХ-JE 874) в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии МУК 4.1.1147—02 186
Определение остаточных количеств Флудиоксонила в воде почве зеленой массе растений, клубнях картофеля, зерне и соломе хлебных злаков зерне кукурузы семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1148—02 194
Определение остаточных количеств Цимоксанила в воде, почве, зеленой массе растений, клубнях картофеля, ягодах винограда, плодах огурца хроматографическими методами: МУК 4.1.1149—02 212
Измерение концентраций Цимоксанила методом тонкослойной хроматографии в воздухе рабочей зоны: МУК 4.1.1150—02 225
Определение остаточных количеств Циперметрина в шампиньонах методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1151—02 232
Измерение концентраций Этоксилата изодецилового спирта (ТРЕНДА 90) в воздухе рабочей зоны спектрофотометрическим методом: МУК 4.1.1152—02 238
Газохроматографическое измерение массовой концентрации Ацетохлора в атмосферном воздухе: МУК 4.1.1154—02 244
Измерение концентраций Ацифлуорфена в воздухе рабочей зоны хроматографическими методами: МУК 4.1.1155—02 254
Измерение концентраций бенсульфурон-метила в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест методами газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1156—02 267
Измерение концентрации бета-цифлутрина в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1157—02 275
Измерение концентрации Бромоксинил октаноата в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1158—02 282
Измерение концентраций Бромуконазола в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1159—02 289
Измерение концентраций Диметипина в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1160—02 296
Измерение массовой концентрации Карбендазима в воздухе рабочей зоны методами газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1161—02 303
Измерение массовой концентрации Карбофурана в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1162—02 316
Измерение концентраций Метосулама в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1163—02 326
Измерение концентраций Прохлораза в воздухе рабочей зоны методами газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1164—02 334
Измерение массовой концентрации тетраконазола методом газожидкостной хроматографии в воздухе рабочей зоны: МУК 4.1.1165—02 343

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарны
врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здрав
охранения Российской Федерации

Г. Г. Онищенк
Дата введения: 1 января 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств Цимоксанила в воде, почве, зеленой массе растений, клубнях картофеля, ягодах винограда, плодах огурца хроматографическими методами

Методические указания МУК 4.1.1149—02

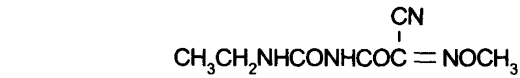
1. Вводная часть

Фирма-производитель: Дюпон, США.

Торговое название: Курзат.

Название действующего вещества по ИСО: Цимоксанил.

Название действующего вещества по IUPAC: 1-(2-циано-2-метоксииминоацетил)-3-этилмочевина.



$C_7H_{10}N_4O_3$ М. м. 198,2

Химически чистый Цимоксанил представляет собой бесцветное кристаллическое вещество.

Давление паров: 0,15 мПа при 20 °С

Температура плавления: 160—161 °С.

Коэффициент распределения н-октанол – вода logP: 0,59 (pH 5); 0,67 (pH 7).

Растворимость в воде составляет 890 мг/л. Растворимость в органических растворителях (г/л): ацетон – 62,4; ацетонитрил – 57, бензол – 2, гексан – 1,85, диметилформамид – 185, метанол – 22,9, метилен хлорид – 133, н-октанол – 1,43. толуол – 5,29, хлороформ – 103, этилацетат – 28.

Цимоксанил стабилен в интервале pH 2—5, в щелочных растворах быстро гидролизуется ($ДТ_{50}$ – 149 дн. при pH 5, 34 ч при pH 7 и 31 мин при pH 9). В воде водоемов период полураспада составляет 1,8 дн.

В почве Цимоксанил быстро разрушается под действием микроорганизмов. В тепличных условиях период полураспада составляет около трех дней, в полевых условиях от 7 до 14 дней. Миграция по почвенному профилю слабая.

В растениях соединение быстро разрушается до нетоксичных метаболитов. Остатки Цимоксанила в клубнях картофеля не обнаруживаются. В ягодах винограда, по данным фирмы Дюпон, остатки составляли ниже 0,2 мг/кг при обработке за несколько дней до уборки.

Краткая гигиеническая характеристика

Цимоксанил относится к умеренно опасным соединениям по острой ($ЛД_{50}$ для крыс – 960 мг/кг), малоопасным по дермальной токсичности ($ЛД_{50}$ для крыс более – 2 000 мг/кг) и умеренно опасным по ингаляционной ($ЛК_{50}$ (4 часа) – 5 060 мг/м^3) токсичности, не вызывает раздражения глаз и слабо раздражает кожу.

В РФ установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,02 мг/кг массы человека;

ОДК в почве – 0,04 мг/кг;

ПДК в воде водоемов – 0,3 мг/дм^3;

МДУ в картофеле и огурцах – 0,05 мг/кг;

ВМДУ в винограде – 0,1 мг/кг.

Цимоксанил – 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 системного и защитного контактного действия.

Зарегистрирован в России под названием Танос, диспергируемые в воде гранулы, 50 % (25 % Фамоксадона + 25 % Цимоксанила) на картофеле с нормой расхода 0,6 кг/га, трехкратная обработка за сезон.

2. Методика определения Цимоксанила в воде, почве, зеленой массе растений, клубнях картофеля, ягодах виноград плодах огурца хроматографическими методами

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Цимоксанила с помощью г жидкостной хроматографии при использовании термоионного детек на неподвижной фазе ХЕ-60 после экстракции органическим раствор телем, очистки экстракта путем перевода действующего вещества в водную фазу и повторной экстракции органическим растворителем.

Метод ТСХ основан на извлечении Цимоксанила из анализируемого объекта этилацетатом, очистке экстракта на колонке с оксидом алюминия или сублимацией в вакууме и определении тонкослойной хроматографией.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки (ГЖХ) или визуального сравнения величин пятен стандарта и пробы.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Анализируемый объект	Метрологические параметры, p=0,95, n=20				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение S	доверительный интервал среднего результата %, ±
1	2	3	4	5	6
ГЖХ					
Почва	0,02	0,02—0,75	87,2	1,04	2,2
Зеленая масса растений	0,02	0,02—0,75	87,1	0,89	1,9
Огурцы	0,02	0,02—0,75	90,4	0,90	1,9
Виноград	0,02	0,02—0,75	91,3	0,72	1,6
Клубни картофеля	0,02	0,02—0,75	87,2	1,03	2,1
ТСХ					
Картофель	0,04	0,04—0,40	78	11	16
Почва	0,1	0,1—1,0	81	12	17
Вода	0,004	0,004—0,04	81	13	17

Таблица 2

Доверительный интервал и полнота определения Цимоксанила в почве, зеленой массе растений, клубнях картофеля, огурцах и винограде

Среда	Добавлено Цимоксанила, мг/кг	Обнаружено Цимоксанила, мг/кг	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
Почва	0,75	0,640	0,066	85,3
	0,5	0,450	0,023	90,0
	0,25	0,215	0,02	86,0
	0,1	0,0875	0,012	87,5
Зеленая масса растений	0,75	0,637	0,025	85,0
	0,5	0,444	0,021	88,8
	0,25	0,211	0,012	84,5
	0,1	0,090	0,004	90,0
Клубни картофеля	0,75	0,655	0,019	87,4
	0,5	0,458	0,016	91,5
	0,25	0,208	0,014	83,0
	0,1	0,087	0,006	86,8
Огурцы	0,75	0,666	0,026	88,8
	0,5	0,461	0,022	92,2
	0,25	0,222	0,018	88,8
	0,1	0,917	0,0039	91,7
Виноград	0,75	0,697	0,020	92,9
	0,5	0,468	0,017	92,9
	0,25	0,222	0,011	88,8
	0,1	0,906	0,004	90,6

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях методы специфичны в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании винограда, огурцов и картофеля (дитиокарбаматы, хлор- и фосфорорганические соединения, синтетические пиретроиды).

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Цимоксанил с содержанием д. в. 99,4 %

Азот, осч ГОСТ 9293—74

Алюминия оксид II степени активности по Брокману, нейтральный, производства ВНР Реанал МРТУ 6-09-5296—68

или аналогичный отечественный реактив для хроматографии	
Ацетон	ГОСТ 2603—79
Вода дистиллированная	ГОСТ 7602—72
Водород технический	ГОСТ 3022—70
Воздух	ГОСТ 11882—73
Калия иодид, ч	ГОСТ 4232—74
Калия перманганат, ч	ГОСТ 20490—75
Кислота уксусная, ч, ледяная	ГОСТ 18270—72
Кислота хлороводородная, 0,1 н раствор	
Кислота хлороводородная, концентрированная	ГОСТ 857—88
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Неподвижные фазы для ГЖХ: 5 % ХЕ-60 на Хроматоне N-AW, размер частиц 0,20—0,25 мм, Хемапол, Чехия	
Хлороформ	ГОСТ 20015—74
Этилацетат, хч	МРТУ 6-09-6515

2.2.2. Приборы, оборудование, посуда

Хроматограф газовый с термоионным детектором «Цвет-600» или другой аналогичного типа	
Баня водяная	ТУ 46-22-603—75
Воронки делительные на 1 000 мл	ГОСТ 25336—82
Воронки делительные на 250 мл	ГОСТ 10054—75
Воронки для фильтрования, стеклянные	ГОСТ 8613—75
Встряхиватель механический	ТУ 64-1-1081—73
Камера хроматографическая с пришлифованной крышкой	ГОСТ 25336—82
Колбы грушевидные, вместимостью 50 мл	ГОСТ 25336—82
Колбы конические плоскодонные на 100 и 250 мл, КПШ-100, КПШ-250	ГОСТ 10394—72
Колбы мерные на 25, 50, 100 мл	ГОСТ 1770—74
Колбы плоскодонные, вместимостью 500 и 250 мл	ГОСТ 25336—82
Колонка хроматографическая с краном и оттянутым носиком, длиной 10 см, внутренним диаметром 1 см	
Компрессор воздушный УК-40-2М	

Концентраторы грушевидные (конические) НШ29 КГУ-100-14/19, ТС	ГОСТ 10394—72
Лампа УФ света или аналогичная	ТУ 16-535-280—74
Микрошприц на 100 мкг	ГОСТ 20292—74
Насос водоструйный	ГОСТ 10696—75
Пипетки мерные на 0,1; 1,0; 5,0; 10; 25 мл	ГОСТ 20292—74
Пластинки хроматографические, Сорбифил (г. Краснодар) или аналогичные	
Пробирки градуированные с пробками на шлифах, вместимостью 10 мл	ГОСТ 1770—74
Пульверизатор	ГОСТ 253360—82
Ротационный испаритель ИР-1М	ТУ 25-11-917—74
Стаканы химические стеклянные на 100 мл	ГОСТ 6236—72
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ 6-09-1678—86
Цилиндры мерные, вместимостью100 мл	ГОСТ 1770—74

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонки для газожидкостной хроматографии

Готовую насадку (5 % ХЕ-60 на Хроматоне N-AW) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре 230 °С в течение 8—10 часов. Для достижения предела обнаружения проводят тренировку колонки в течение 48—72 часов, вводя каждый час по 3 мкл стандартного раствора Цимоксанила с концентрацией 10 мкг/мл.

2.3.2. Приготовление колонки с оксидом алюминия

В стеклянную хроматографическую колонку помещают ватный тампон, затем суспензию 4 г оксида алюминия в 15 мл хлороформа (при открытом кране колонки). Когда сорбент заполнит всю колонку, дают возможность стечь избытку растворителя, оставляя маленький слой его (0,2—0,3 см) на поверхности оксида алюминия. Кран закрывают. Колонка готова к работе.

2.3.3. Подготовка хлорирующей камеры

Камеру для хлорирования готовят следующим образом: на дно эксикатора помещают чашку Петри с 5 г $KMnO_4$, а затем к ее содержимому осторожно приливают 15 мл концентрированной соляной кислоты. Эксикатор закрывают пришлифованной крышкой. Камера может быть использована через 5—10 мин.

2.3.4. Подготовка хроматографических камер

В хроматографические камеры за один час до начала хроматографирования наливают хлороформ или смесь растворителей: гексан ацетон (3 : 2) для насыщения камеры парами подвижных растворителей. Объем подвижного растворителя в камере должен находиться по высоте не выше, чем 0,7—1 см от уровня дна камеры.

2.3.5. Приготовление проявляющего реагента

Растворяют в мерной колбе на 500 мл 0,16 г о-толидина в 30 мл ледяной уксусной кислоты, добавляют дистиллированной воды примерно до 300 мл и прибавляют 1 г иодида калия. При помешивании растворяют иодид калия и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Раствор хранят в темной склянке. Годен к употреблению в течение длительного времени.

2.3.6. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают 50 мг Цимоксанила в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в этилацетате и доводят объем до метки этилацетатом (стандартный раствор № 1, концентрация 1 мг/мл).

Стандартный раствор № 1 можно хранить в холодильнике в течение 1 месяца. Методом последовательного разбавления готовят стандартные растворы Цимоксанила в этилацетате с концентрацией 10,0; 5,0; 2,5; 2,0 и 1,0 мкг/мл для построения калибровочного графика.

Для ТСХ приготавливают стандартные растворы Цимоксанила в ацетоне с концентрацией 100 и 10 мкг/мл.

2.3.7. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика вводят в хроматограф последовательно по 3 раза по 2,5 мкл каждого из полученных пяти растворов, измеряют высоту или площадь пиков, рассчитывают среднее значение высоты пика или его площади для каждой концентрации и строят график зависимости высоты пика или площади от концентрации Цимоксанила мкг/мл.

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). Отобранные пробы хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре

не выше 4 °С. Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Растительные образцы замораживаются (лучше жидким азотом) и хранятся в холодильнике при –10 °С в течение 1 месяца, предварительно определяется содержание влаги.

Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 0,1 мм, растительный материал режут ножом на кусочки длиной не более 0,5 см, остальные объекты измельчают на гомогенизаторе или на терке.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Вода. ТСХ

500 мл воды помещают в делительную воронку вместимостью 1 000 мл, добавляют около 5 г хлорида натрия и 50 мл хлороформа. Смесь в течение нескольких минут энергично встряхивают. После разделения слоев нижний хлороформный слой сливают в плоскодонную колбу вместимостью 250 мл. Экстракцию Цимоксанила повторяют еще дважды тем же количеством растворителя. Объединенный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (10—12 г). Раствор сливают через бумажный фильтр порциями в грушевидную колбочку вместимостью 50 мл. Концентрируют каждую порцию с помощью ротационного вакуумного испарителя до объема 2 мл. Последнюю порцию растворителя отгоняют полностью. К сухому остатку пипеткой добавляют 1 мл гексана, колбочку закрывают пробкой на шлифе и ее стенки тщательно обмывают растворителем.

2.5.2. Почва

2.5.2.1. *ГЖХ.* Навеску 50 г воздушно-сухой почвы помещают в коническую колбу объемом 250 мл, равномерно смачивают 10 мл воды и перемешивают. Добавляют в колбу 100 мл ацетона, встряхивают на приборе для встряхивания 1 час. После выдерживания в течение 10 минут экстракт фильтруют методом декантации через фильтр «красная лента» в концентратор. Повторяют экстракцию дважды: 50 мл ацетона в течение 0,5 часа и 50 мл ацетона – 15 минут. Экстракты объединяют, добавляют в концентратор 20 мл дистиллированной воды и упаривают ацетон на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С. Далее экстракт очищают по следующей схеме.

2.5.2.1.1. *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 чистую делительную воронку, добавляют туда 10 мл 0,1 н соляной кислоты и интенсивно встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний хлороформовый слой собирают в конический концентратор, пропуская его через слой безводного серно-кислого натрия. Осушитель ополаскивают 10 мл хлороформа. Экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С. Последние капли растворителя удаляют током воздуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл этилацетата и вводят в хроматограф 2,5 мкл пробы.

2.5.2.2. *Почва ТСХ.* К 10 г почвы, растертой в фарфоровой ступке, добавляют 2 мл дистиллированной воды. Почву тщательно увлажняют. Экстракцию Цимоксанила проводят этилацетатом три раза порциями по 50 мл при механическом встряхивании колбы в течение 30 мин. Дальнейшее определение проводят по схеме, описанной ниже с любой очисткой.

2.5.2.2.1. Очистка экстракта хроматографией на колонке с Al_2O_3.

Сухой остаток с помощью 2—3 мл хлороформа количественно переносится на колонку с оксидом алюминия. Каждый раз дают возможность раствору впитаться в сорбент, открывая кран колонки, но не допуская ее осушения Во всех случаях над сорбентом должен оставаться небольшой слой растворителя (2—3 мм) Цимоксанил элюируют с колонки 10 мл хлороформа, собирая элюат в круглодонную колбу. Элюирование проводят со скоростью 1 кап./с. Равномерность потока растворителя обеспечивается вакуумом, регулируемым водоструйным насосом. Из приемной колбы вместимостью 20—25 мл с помощью ротационного вакуумного испарителя полностью отгоняют растворитель. К сухому остатку пипеткой добавляют 1 мл гексана. Колбочку закрывают пришлифованной пробкой и ее стенки тщательно обмывают растворителем.

2.5.2.2.2. Очистка экстракта микросублимацией в вакууме.

Сухой остаток с помощью 2—3 мл хлороформа количественно переносится в патрон сублиматора. Патрон помещают на горячую баню и полностью удаляют растворитель, регулируя равномерное распределение остатка по дну сублиматора. В патрон помещают «палец» сублиматора и проводят микросублимацию Цимоксанила на кипящей бане при

0,1—0,3 мм рт. ст. в течение 40 мин. После окончания сублимации Цимоксанил смывают с «пальца» сублиматора в грушевидную колбочку вместимостью 25 мл с помощью 10 мл ацетона. Из колбочки с помощью ротационного вакуумного испарителя полностью отгоняют растворитель. К сухому остатку пипеткой добавляют 1 мл гексана. Колбочку закрывают пробкой на шлифе и ее стенки тщательно обмывают растворителем.

2.5.3. Виноград, огурцы, клубни картофеля, зеленая масса. ГЖХ

Навеску 50 г измельченных плодов огурцов, клубней картофеля, ягод винограда или зеленой массы помещают в коническую колбу объемом 250 мл, добавляют 50 мл этилацетата и встряхивают на приборе для встряхивания 1 час. 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 проводят экстракцию 50 мл этилацетата в течение 0,5 часа. Органический экстракт объединяют, добавляют в концентратор 20 мл дистиллированной воды и отгоняют этилацетат на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С.

2.5.3.1. *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 чистую делительную воронку, добавляют туда 10 мл 0,1 н соляной кислоты и интенсивно встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний хлороформовый слой собирают в конический концентратор, пропуская его через слой безводного серно-кислого натрия. Осушитель ополаскивают 10 мл хлороформа. Экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 50 °С. Последние капли растворителя удаляют током воздуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл этилацетата и вводят в хроматограф 2,5 мкл пробы.

2.5.4. Клубни картофеля. ТСХ

Навеску анализируемой пробы (50 г) помещают в плоскодонную колбу вместимостью 500 мл, заливают 100 мл этилацетата и проводят экстракцию Цимоксанила при помощи механического встряхивания

колбы в течение 30 мин. Экстракт фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 500 мл. Экстракцию Цимоксанила повторяют еще дважды тем же количеством растворителя. Этилацетат удаляют с помощью ротационного вакуумного испарителя полностью. Далее очистку экстракта можно проводить двумя способами: хроматографией на колонке с оксидом алюминия или микро сублимацией в вакууме (п.п. 2.5.2.2.1 и 2.5.2.2.2).

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

2.6.1.1. *ГЖХ.*

Хроматограф «Цвет-600» с термоионным азотным детектором с пределом детектирования не выше 5×10^{-13} г/см^3 по азоту в азобензоле

Рабочая шкала электрометра	4×10^9 (4×10^{-11} А)
Скорость движения ленты самописца	300 мм/час
Колонка стеклянная, спиральная, длина	2 м
внутренний диаметр	2 мм

Носитель Хроматон N-AW, размер частиц 0,200—0,250 мм, неподвижная фаза 5 % ХЕ-60.

Температура: термостата колонки	170 °С
переходной камеры	360 °С
испарителя	340 °С
Газовый режим: водород	12 мл/мин
азот	33 мл/мин
воздух	180 мл/мин
Объем пробы, вводимой в испаритель	2,5 мкл
Абсолютное время удерживания Цимоксанила	1 мин 22 с

Линейность детектирования сохраняется в пределах 2,5—37,5 нг. Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту пика. Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 15 мкг/мл, разбавляют.

2.6.2.2. *ТСХ.*

На хроматографические пластинки Сорбифил с помощью микрошприца на 100 мкл или микропипетки на 0,1 мл наносят аликвотную часть полученного по пунктам (2.5.1, 2.5.2.2.1, 2.5.2.2.2) раствора (100 мкл). Справа и слева таким же способом наносят серию стандартных растворов Цимоксанила с содержанием 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; ...1,0 мкг.

Градуировочные растворы готовят в градуированных пробирках вместимостью 10 мл с пробками на шлифе согласно табл. 3.

Хроматограмму развивают в системе хлороформ или гексан–ацетон (3 : 2). При очистке экстракта на колонке с Al_2O_3 сначала в хлороформе, а затем, после высушивания пластинки, в гексан–ацетон (3 : 2). После развития, высушенную хроматограмму помещают под лампу УФ света на 10 мин, а затем на 10 мин в свежеприготовленную хлорирующую камеру. После удаления избытка хлора пластинку обрабатывают из пульверизатора проявляющим реактивом. Цимоксанил проявляется на хроматограмме в виде темных пятен на белом фоне с R_f 0,21 ± 0,05 в хлороформе, R_f 0,45 ± 0,05 в системе гексан–ацетон и R_f 0,66 ± 0,02 *при сочетании двух систем подвижных растворителей.* Линейный диапазон определения 0,2—1,0 мкг. Пятна стабильны в течение длительного времени.

Таблица 3

Шкала стандартов

	Номер стандарта						
	1	2	3	4	5	...	9
Внесено стандартного раствора Цимоксанила 10 мкг/мл, мл	2	3	4	5	6	...	10
Добавлено гексана, мл	8	7	6	5	4	...	0
Концентрация Цимоксанила в полученном растворе, мкг/мл	2	3	4	5	6	...	10
Содержание Цимоксанила в хроматографируемой пробе, мкг	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	...	1,0

2.6.2. Обработка результатов анализов

2.6.2.1. *ГЖХ.*

Содержание Цимоксанила в пробе рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1\ A\ V\ c}{H_0\ m\ 100}\ P\ ,\ \text{где}$$

X – содержание гербицида в пробе, мг/кг;

H_1 – высота пика стандарта, мм;

H_o – высота пика образца, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования (мл);

c – фактор разбавления, учитывающий взятие аликвоты в ходе определения;

m – масса анализируемого образца, г или мл.

P – содержание Цимоксанила в аналитическом стандарте, %.

2.6.2.2. *ТСХ.*

Количественное определение Цимоксанила проводят путем сравнения площади и интенсивности окраски пятен рабочей пробы и серии стандартов.

Содержание Цимоксанила в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C\,V}{V_a\,P}, \text{ где}$$

X – содержание Цимоксанила в анализируемой пробе, мг/кг (мг/л);

C – содержание Цимоксанила, найденное в хроматографируемой пробе, мкг;

V – общий объем раствора, мл;

V_a – объем аликвоты, нанесенной на пластинку, мл;

P – навеска или объем анализируемой пробы, г (мл).

3. Требования техники безопасности

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

4. Разработчики

ГЖХ. Калинин В. А., профессор, к. с-х. н.; Калинина Т. С., к. с-х. н.; Довгилевич А. В., к. хим. н.; Довгилевич Е. В., к. биол. н.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева. 127550, Москва, Тимирязевский пр., 2, кафедра химических средств защиты растений. Телефон: (095) 976-02-20.

ТСХ. ВНИИХСЗР, г. Москва. Новикова К. Ф., к. хим. н. и др.

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых *продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах* окружающей среды

Сборник методических указаний

Выпуск 1

Редакторы Акопова Н. Е., Кожока Н. В. Кучурова Л. С., Максакова Е. И.
Технические редакторы Климова Г. И., Ломанова Е. В.

Подписано в печать 29.01.04

Формат 60x88/16 Печ. л. 22.0

Тираж 1500 экз. Заказ 6417

Министерство здравоохранения Российской Федерации
101431, Москва, Рахмановский пер., д. 3

Оригинал-макет подготовлен к печати Издательским отделом
Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России
125167, Москва, проезд Аэропорта, 11
Отделение реализации, тел. 198-61-01

Отпечатано в филиале Государственного ордена Октябрьской Революции
ордена Трудового Красного Знамени Московского предприятия
«Первая Образцовая типография» Министерства Российской Федерации
по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций
113114, Москва, Шлюзовая наб., 10, тел.: 235-20-30

gost.e-ecolog.ru