

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель министра здравоохранения
Российской Федерации
Г.Г.ОНИЩЕНКО
24 июня 2003 г.
МУК 4.1.1224а-03

Дата введения: 30 июня 2003 г.

ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ МЕТСУЛЬФУРОН-МЕТИЛА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, ЗЕРНЕ И СОЛОМЕ ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ КУЛЬТУР МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

(Модификация методических указаний МУК 4.1.1224а-03)

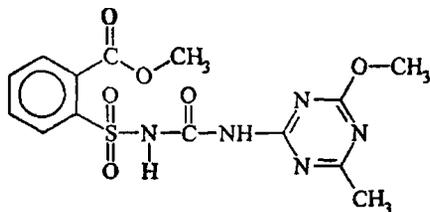
1. Вводная часть

Торговое наименование: Аккурат, Алмазис, Террамет, Артен.

Фирма производитель: Кемнинова, Алсико-Агрохим, Экопродком, Северо-Кавказский Агрохим.

Действующее вещество: метсульфурон-метил.

Структурная формула:



Метил 2[[[(4-метокси-6-метил-1,3,5-триазин-2-ил)амино]карбонил]амино]сульфонил]бензоат
Мол. масса: 381,4.

Брутто формула: C₁₄H₁₅N₅O₆S

Химически чистый метсульфурон-метил представляет собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 158°C, давлением паров 3.3x10⁻⁷ мПа (25°C).

Коэффициент распределения в системе н-октанол-вода K_{ow} lgP=-1.74 (pH 7).

Растворимость (г/л): в воде 0.55(pH 5), 2.79 (pH 7), 213 (pH 9) при 25°C;

дихлорметане - 121, ацетоне - 36, метаноле - 7.3, этаноле - 2.3, ксилоле - 0.58 (20°C).

Стабилен на воздухе до 140°C, в нейтральных и щелочных растворах при 25°C.

Группа токсичности по ЕПА -1V, ВОЗ - III (табл.5); LD₅₀ для крыс >5000 мг/кг.

Область применения: послевсходовый гербицид, применяется на зерновых культурах для борьбы с однолетними и некоторыми многолетними двудольными сорняками, в том числе устойчивыми к 2,4-Д видами. Используется в препаративной форме СП (смачивающийся порошок) с нормой расхода по препарату 25 г/га (по действующему веществу 15 г/га).

Гигиенические нормативы для метсульфурон-метила в России:

ОДК в почве – 0.3 мг/кг, ПДК в воде водоемов – 0.05 мг/дм³. МДУ в зерне хлебных злаков – 0.05 мг/кг.

2. Методика определения метсульфурон-метила в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом ВЭЖХ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении метсульфурон-метила методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов смесью ацетон–вода с последующей очисткой перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями, на патронах, содержащих обращенную фазу C16 и на колонке с силикагелем.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Объект анализа	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон измеряемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, % (для каждого объекта n=24)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, n=24, P=0.95
Вода	0.005	0.005-0.04	97.6	2.9	3.2
Почва	0.015	0.025-0.2	92.5	4.6	5.1
Солома	0.1	0.1- 0.8	85.4	7.4	6.5
Зерно	0.015	0.025 - 0.2	85.5	6.6	5.8

Таблица 2

Полнота определения метсульфурон-метила в воде, почве, зерне и соломе пшеницы (n = 6 для каждой концентрации)

Среда	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, ±	Полнота определения, %
1	2	3	4	5
Вода	0.005	0.0046	0.0003	92.0
	0.010	0.00999	0.0001	99.9
	0.020	0.0198	0.001	99.0
	0.040	0.0398	0.0008	99.4
Среднее				97.6

Почва	0.025	0.0239	0.0008	95.5
	0.050	0.0466	0.001	93.3
	0.100	0.0872	0.002	87.2
	0.200	0.1880	0.002	94.1
Среднее				92.5
1	2	3	4	5
Солома	0.100	0.0818	0.009	81.8
	0.200	0.171	0.017	85.7
	0.400	0.342	0.025	85.6
	0.800	0.706	0.048	88.3
Среднее				85.4
Зерно	0.025	0.0209	0.002	83.6
	0.050	0.0432	0.004	86.3
	0.100	0.0845	0.005	84.5
	0.200	0.1754	0.011	87.7
Среднее				85.5

2.1.3. Избирательность метода

Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, осч, ТУ 6-09-3513-86.

Ацетонитрил для ВЭЖХ, "В-230НМ" или х.ч., ТУ 6-09-3534-87.

Бумажные фильтры "красная лента", ТУ 6.091678-86.

Вода бидистиллированная, деионизированная, ГОСТ 6709-79.

Дихлорметан, х.ч., ТУ 6-09-3716-80.

Калий углекислый, х.ч., ГОСТ 4221-76.

Калий фосфорнокислый 2-замещенный, 3-водный, чда, ГОСТ 2493-75; 0.1М водный раствор.

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75.

Кальция хлорид, х.ч., ГОСТ 4161-77.

Кислота ортофосфорная, имп. (Fergak, Германия) или хч, ГОСТ 6552-80; 2М и 0.005М водные растворы.

Кислота серная, х.ч., ГОСТ 4204-77.

Концентрирующие патроны Диапак-С16 (0,6 г)

Метсульфурон-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 95%, производства фирмы "Кеминова" (Дания).

Натрий двууглекислый, ГОСТ 83-79.

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

Натрия гидроксид, х.ч., ГОСТ 4328-77.

n-Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98, свежеперегнанный.

Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил – 0,005М ортофосфорная кислота (34:66, по объему).

Силикагель для колоночной хроматографии Л1 100/250µm (Chemapol, Чехословакия).

Стекловата.

Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69.

Элюент №1 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (50:50, по объему).

Элюент №2 для колоночной хроматографии: смесь гексан – этилацетат (20:80, по объему). Этиловый эфир уксусной кислоты, ч.д.а., ГОСТ 22300-76.

2.3. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы "Waters" с УФ детектором с дегазатором и автоматическим пробоотборником или аналогичный.
 Колонка Symmetry C-18 (250x4.6) мм, 5 мкм (Waters, USA) или аналогичная.
 Предколонка Symmetry C-18 (Waters).
 Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные.
 Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836.008.
 Мельница ножевая РМ-120 и лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.
 Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.
 Бидистиллятор.
 рН-метр универсальный ЭВ-74, ГОСТ 22261-76.
 Насос водоструйный, МРТУ 42 861-64.
 Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС, ГОСТ 10384-72.
 Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29-32 ТС, ГОСТ 10384-72.
 Воронки лабораторные В-75-110, ГОСТ 25 336-82.
 Воронки делительные ВД-3-250, ГОСТ 8613-75.
 Цилиндры мерные на 100, 250 и 1000 см³, ГОСТ 1774-74.
 Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1000 см³, ГОСТ 1770-74.
 Пипетки на 1, 2, 5, 10 см³, ГОСТ 22292-74.
 Колонки стеклянные (25x1) см.
 Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75
 Аллонж прямой с отводом для вакуума (используется для работы с концентрирующими патронами Диапак-С16)

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 зерна и соломы для определения остатков в урожае хранят в бумажной или тканевой упаковке при комнатной температуре. Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются 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. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка картриджа Диапак-С16 для очистки экстракта

Все процедуры проводят с использованием вакуума, скорость потока элюента не должна превышать 2–2.5 мл/мин.

Перед использованием картридж промывают последовательно 10 мл смеси ацетон-вода в соотношении 1:1 и 10 мл дистиллированной воды.

Внимание! Нельзя допускать высыхания поверхности картриджа!

Примечание: параметры удерживания метсульфурон-метила и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии картриджей.

2.5.2. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с типовыми методиками. Гексан и хлористый метилен встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции кислоты, затем промывают водой, 2%-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют. Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташем (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3). Ацетонитрил сушат над пентоксидом фосфора и перегоняют; отогнанный растворитель повторно перегоняют над углекислым калием. Этилацетат промывают равным объемом 5%-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.3. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа колонку (Symmetry C-18) кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 мл/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1-2 часов.

2.5.4. Приготовление растворов

Для приготовления 2М раствора ортофосфорной кислоты 200 г 98% (или 225 г 87%) кристаллической H_3PO_4 помещают в мерную колбу объемом 1 л, растворяют в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Для приготовления 0.005М раствора ортофосфорной кислоты 2.5 мл 2М раствора H_3PO_4 вносят в мерную колбу на 1 л и доводят до метки деионизированным бидистиллятом.

Для приготовления 0.1М раствора K_2HPO_4 22.8 г кристаллического калия фосфорнокислого двузамещенного трехводного помещают в мерную колбу на 1 л, растворяют при перемешивании в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем раствора до метки.

Для получения 90%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 900 мл ацетона со 100 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для получения 50%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 500 мл ацетона со 500 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для получения 5%-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 50 мл ацетона со 950 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для приготовления подвижной фазы смешивают ацетонитрил с 0.005М раствором ортофосфорной кислоты в соотношении 34:66 по объему, используя мерные цилиндры.

Для приготовления элюента №1 в колбе на 1000 мл смешивают 500 мл н-гексана и 500 мл этилацетата. Для приготовления элюента №2 в колбе на 1000 мл смешивают 200 мл н-гексана и 800 мл этилацетата.

Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Берут точную навеску метсульфурон-метила (50 мг), переносят в мерную колбу на 100 мл, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки. (Стандартный раствор с концентрацией 0.5 мг/мл). Градуировочные растворы с концентрациями 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 и 2.0 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления по объему, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрил : 0.005М ортофосфорная кислота (34:66, по объему)).

Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0–4°C в течение 1 месяца, градуировочные растворы и растворы проб – в течение суток.

При изучении полноты открывания метсульфурон-метила используют ацетонитрильные растворы вещества. Растворы внесения с концентрациями 0.1 и 1.0 мкг/мл готовят из стандартного раствора с концентрацией 0.5 мг/мл методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

2.5.5. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация метсульфурон-метила в растворе) в хроматограф вводят по 20 мкл градуировочных растворов (не менее 3-х параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4-х точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации метсульфурон-метила в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.5.5. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 30 мл смеси гексан – этилацетат (50: 50, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 50 мл элюента №2 и 50 мл элюента №1 со скоростью 1–2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.6. Проверка хроматографического поведения метсульфурон-метила на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора метсульфурон-метила с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха (температура не выше 40°C), остаток растворяют в 5 мл элюента №1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 мл элюента №1 и также вносят на колонку. Промывают колонку 50 мл элюента №1, затем 100 мл элюента №2 со скоростью 1–2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.4.) и анализируют на содержание метсульфурон-метила по п. 2.6.6.

Фракции, содержащие метсульфурон-метил, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.6.6. Рассчитывают содержание метсульфурон-метила в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: параметры удерживания метсульфурон-метила и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.5.7. 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. Извлечение метсульфурон-метила из проб воды

К образцу предварительно отфильтрованной воды объемом 100 мл, добавляют 2,28г K_2HPO_4 и перемешивают до растворения соли. Полученный раствор переносят в делительную воронку емкостью 250 мл, промывают трижды хлористым метиленом порциями по 40 мл, встряхивая каждый раз в течение 2-3 мин. Нижний органический слой отбрасывают, водную фазу подкисляют 2М ортофосфорной кислотой до pH 3 и экстрагируют метсульфурон-метил хлористым метиленом трижды порциями по 50 мл, встряхивая каждый раз в течение 2-3 мин. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10-15 мл хлористого метилена. После этого экстракт упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40°C. При необходимости проводят дополнительную очистку экстракта на колонке с силикагелем по пункту 2.6.5.

Сухой остаток растворяют в 4 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.2. Извлечение метсульфурон-метила из проб почвы.

Образец воздушно-сухой почвы массой 20 г помещают в коническую колбу емкостью 250 мл с притертой пробкой, добавляют 100 мл 90%-го водного ацетона и экстрагируют в течение 15 мин на ультразвуковой бане. Суспензию фильтруют на стеклянной воронке через бумажный фильтр "красная лента". Экстракцию повторяют с 50 мл 90%-ного водного ацетона. Объединенные экстракты упаривают до водного остатка (10-15 мл) на роторном испарителе при температуре не выше 40°C.

Водный остаток переносят в делительную воронку объемом 250 мл, добавляют 90 мл 0,1М раствора K_2HPO_4 и 20 мл хлористого метилена, смесь встряхивают в течение 2 мин. Нижний органический слой отбрасывают, а водную фазу обрабатывают хлористым метиленом еще 2 раза (по 20 мл). Затем водную фазу подкисляют 2М ортофосфорной кислотой до pH 3 и метсульфурон-метил экстрагируют хлористым метиленом трижды по 30 мл, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2-3 мин*. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (2 г), осушитель промывают 10-15 мл хлористого метилена. Полученный раствор упаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40°C. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5**.

2.6.3. Извлечение метсульфурон-метила из проб соломы и зерна зерновых колосовых культур

Навеску измельченной на ножевой мельнице соломы (5г), или размолотого на лабораторной мельнице зерна (20г) помещают в коническую колбу емкостью 250 мл и экстрагируют метсульфурон-метил 50 мл 50%-ного водного ацетона на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Суспензию фильтруют через бумажный фильтр "красная лента". Экстракцию повторяют. Объединенный экстракт упаривают на ротационном

испарителе при температуре бани не выше 40°C до полного удаления ацетона (объем ~50мл).

Объединённый водный экстракт промывают трижды гексаном порциями по 30 мл (верхний органический слой отбрасывают), встряхивая делительную воронку каждый раз по 2-3 мин*. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.4.

* Отделение водного слоя следует производить только после полного расслоения жидкостей в делительной воронке. В случае образования сравнительно стойких эмульсий для сокращения времени расслоения можно добавить в делительную воронку: на стадии промывки экстрактов гексаном и хлористым метилом – небольшое количество (до 1 мл) этилового спирта, а на стадии переэкстракции – насыщенный раствор хлорида натрия (15–20 мл).

2.6.4. Очистка экстрактов на картриджах Диапак–С16

Полученный по п. 2.6.3. экстракт вносят на картридж. Картридж промывают 50 мл дистиллированной воды. Элюат отбрасывают. Метсульфурон-метил элюируют с картриджа 100 мл смеси ацетон–вода в соотношении 5:95 (п. 2.5.4.). Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°C до полного удаления ацетона. Из водного раствора экстрагируют метсульфурон-метил хлористым метилом трижды порциями по 30 мл, встряхивая делительную воронку каждый раз по 2-3 мин. Верхний водный слой отбрасывают. Объединённый метилхлоридный экстракт сушат, пропуская через слой безводного сернокислого натрия (5 г) и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре бани не выше 40°C. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.5**.

** В случаях, когда очистка экстрактов контрольных проб (п.п. 2.6.2. и 2.6.4.) дает удовлетворительные результаты дополнительную очистку на колонке с силикагелем можно исключить.

2.6.5. Очистка экстрактов на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.2. и 2.6.3. экстрактов почвы и растительного материала количественно переносят двумя 5-мл порциями смеси гексан – этилацетат (50:50, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п.2.5.5.). Промывают колонку 50 мл элюента №1, которые отбрасывают. Метсульфурон-метил элюируют 100 мл элюента №2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 250 мл. Раствор упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40°C. Сухой остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.6. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф "Альянс" фирмы Waters с УФ детектором (Waters 2487) или другой с аналогичными характеристиками. Рабочая длина волны 223 нм.

Предколонка Waters Symmetry C-18 для защиты аналитической колонки.

1. Колонка Symmetry C-18 (250 x 4.6) mm, 5 μm (Waters, USA). Температура колонки 30±1°C. Подвижная фаза: ацетонитрил - 0.005M раствор ортофосфорной кислоты в соотношении 34:66. Скорость потока 1 мл/мин. Время удерживания метсульфурон-метила 12.9±0.1 мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Линейный диапазон детектирования 0.1 - 2.0 мкг/мл.

2. Колонка Nova-Pac C-18 (150 x 3.9) mm, 4 мкм (Waters, USA). Температура колонки

комнатная (в отсутствие термостатирования). Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.005M раствор ортофосфорной кислоты в соотношении 28:72 (по объему). Скорость потока элюэнта: 1 мл/мин. Время удерживания метсульфурон-метила 9.8 ± 0.3 мин.

2.6.7. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание метсульфурон-метила в образце воды, почвы или растений (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P},$$

где S_1 - площадь пика метсульфурон-метила в стандартном растворе, мм;

S_2 - площадь пика метсульфурон-метила в анализируемой пробе, мм;

V - объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, мл;

P - навеска анализируемого образца, г, (для воды - объем, мл);

C - концентрация стандартного раствора метсульфурон-метила, мкг/мл.

Содержание остаточных количеств метсульфурон-метила в анализируемом образце вычисляют как среднее из 3-х параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор метсульфурон-метила 2 мкг/мл, разбавляют неподвижной фазой для ВЭЖХ.

3. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе в химических лабораториях, а также инструкции по эксплуатации жидкостного хроматографа и других используемых приборов.

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

Цибульская И.А., Юзихин О.С., Долженко В.И. (ВНИИ защиты растений).