

«УТВЕРЖДАЮ»  
Главный Государственный санитарный врач РФ  
Первый зам. Министра здравоохранения РФ  
Г.Г. Онищенко

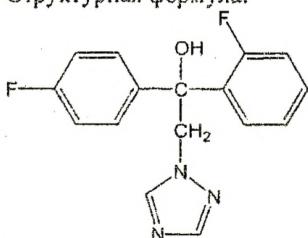
« 5 » марта 2004 г.

МУК 4.1. /854-04  
Дата введения: 1 июля 2004.

## Методические указания по определению остаточных количеств флутриафола в зерне гороха, семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии

### 1. Вводная часть

Фирма регистрант: Кеминова А/С.  
Торговое наименование: Импакт, Винцит.  
Действующее вещество: флутриафол  
Структурная формула:



СА: ( $\pm$ ) - $\alpha$ -(2-фторфенил)- $\alpha$ -(4-фторфенил)-1Н-1,2,4-триазол-1-этанол  
Брутто формула: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O

Мол. масса: 301.3

Химически чистый препарат - твердое белое кристаллическое вещество

Температура плавления: 130°C. Давление паров при 20°C 7.1 x 10<sup>-6</sup> мПа.

Коэффициент распределения н-октанол/вода: K<sub>ow</sub> log P = 2.3 (20°C)

Растворимость (20°C): в воде 130 мг/л, в ацетоне 190 г/л, дихлорметане 150 г/л, метаноле 69 г/л, гексане 0.3 г/л.

В почве период полураспада DT<sub>50</sub> 65-125 дней.

Оральная токсичность (LD<sub>50</sub>) для крыс 1480 мг/кг.

Гигиенические нормативы, МДУ (мг/кг): зерно хлебных злаков, свекла сахарная - 0.1, виноград - н.д., яблоки - 0.1\*. Для зерна гороха, семян и масла подсолнечника гигиенические нормативы не установлены.

Область применения: фунгицид широкого спектра действия для борьбы с болезнями листа и колоса зерновых культур, также применяется для защиты плодовых, зернобобовых и других культур. Используется для борьбы с почвенными, семенными и аэрогенными инфекциями.

## 2. Методика определения флутриафола в зерне гороха, семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1. Принцип метода

Метод определения флутриафола в растительных объектах основан на экстракции пестицида органическими растворителями и очистке перераспределением между двумя несмешивающимися жидкими фазами, а также при необходимости, на колонке с феникагелем. Количество определение проводят методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора (ТИД).

#### 2.1.2. Избирательность метода

Избирательность метода обеспечивается очисткой экстрактов анализируемых проб и отсечением условий хроматографирования. Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

#### 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 измеряемых концентраций, мг/кг | Среднее значение определения, % (для каждого объекта n=24) | Относительное стандартное отклонение S, % | Доверительный интервал среднего, n=24, P=0.95 |
|----------------------|---------------------------|---|--|---|---|
| горох, зерно         | 0.05                      | 0.05-0.5                                | 83.1   | 5.20                                      | 4.95  |
| подсолнечник, семена | 0.05                      | 0.05-0.5                                | 80.4   | 5.45                                      | 4.15  |
| подсолнечник, масло  | 0.05                      | 0.05-0.5                                | 79.0   | 5.65                                      | 4.15  |

Таблица 2

## Полнота определения флутриафола в зерне гороха, семенах и масле подсолнечника

| Среда                   | Внесено,<br>мг/кг | Найдено,<br>мг/кг | Стандартное<br>отклонение, ± | Полнота<br>определения, % |
|-------------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|---------------------------|
| горох,<br>зерно         | 0.05              | 0.0402            | 0.0031                       | 80.4                      |
|                         | 0.1               | 0.0816            | 0.0064                       | 81.6                      |
|                         | 0.2               | 0.1640            | 0.0100                       | 82.0                      |
|                         | 0.5               | 0.4275            | 0.0220                       | 88.5                      |
| Среднее                 |                   |                   |                              | 83.1                      |
| подсолнечник,<br>семена | 0.05              | 0.0380            | 0.0021                       | 76.0                      |
|                         | 0.1               | 0.0792            | 0.0072                       | 79.2                      |
|                         | 0.2               | 0.1648            | 0.0120                       | 82.4                      |
|                         | 0.5               | 0.3200            | 0.0200                       | 83.8                      |
| Среднее                 |                   |                   |                              | 80.4                      |
| подсолнечник,<br>масло  | 0.05              | 0.0376            | 0.0024                       | 75.1                      |
|                         | 0.1               | 0.0792            | 0.0072                       | 79.2                      |
|                         | 0.2               | 0.1592            | 0.0110                       | 79.6                      |
|                         | 0.5               | 0.441             | 0.0210                       | 82.2                      |
| Среднее                 |                   |                   |                              | 79.0                      |

## 2.2. Реактивы, материалы

Флутриафол, аналитический стандарт ( фирма " Кеминова А/С" )

Ацетон, о.с.ч.9-5, ТУ 2633-039-4493179-00 или ч.д.а., ГОСТ 2603-79

Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-76

н-Гексан, х.ч., ТУ 6-09-3375-78

Натрий сернокислый безводный, ч.д.а., ГОСТ 4166-76

Натрия хлорид, х.ч., ГОСТ 4233-77.

Стекловата.

Силикагель L 100/400 для хроматографии (0.040-0.063мм) (Хемапол, Венгрия)

Серная кислота ОСЧ 11-5 ГОСТ 14262-78.

Хлористый метилен, ч.д.а., ТУ-2631-020-11291058-96.

## 2.3. Приборы и посуда.

Газовый хроматограф Цвет-550 М или аналогичный с ТИД и стеклянной насадочной колонкой, длиной 1м, внутренним диаметром 3 мм.

Весы аналитические ВЛА-200, ГОСТ 34104-80Е или аналогичные.

Весы технические ВЛКТ-500, ГОСТ 24104-80.

Мельница лабораторная зерновая ЛМЗ, ТУ 1-01-0593-79.

Установка ультразвуковая «Серьга», ТУ 3.836.008.

Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74 или аналогичный.

Микрошприц МШ-10, МШ- 10М, ТУ 2-833-106.

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 на 500, 1000 мл ВД-3-500, ГОСТ 8613-75.  
Цилиндры мерные на 100 см<sup>3</sup>, 500 см<sup>3</sup> ГОСТ 1774-74.  
Колбы мерные на 100 см<sup>3</sup>, ГОСТ 1770-74.  
Пипетки на 1, 2, 5, 10 см<sup>3</sup>, ГОСТ 22292-74.  
Стаканы химические, ГОСТ 25336-82Е.  
Колонка стеклянная хроматографическая длиной 30 см, диаметром 10 мм.

#### 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). Для длительного хранения зерно и семена подсушивают при комнатной температуре в отсутствие света. Сухие образцы могут храниться в течение года. Перед анализом пробы зерна и семян измельчают. Масло хранят в холодильнике.

#### 2.5. Подготовка к определению.

##### 2.5.1. Подготовка и очистка реагентов и растворителей.

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с общепринятыми методиками. Гексан и дихлорметан встуживают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции, затем промывают водой, после чего сушат над щелочью и перегоняют.

##### 2.5.2. Кондиционирование колонки.

Перед началом анализа колонку, заполненную хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30, не присоединяя к детектору, кондиционируют в токе инертного газа (азот) при температуре 250°C в течение 8-10 часов.

##### 2.5.3. Приготовление стандартного и градуировочных растворов:

Основной раствор флутриафола готовят, количественно перенося 10 мг аналитического стандарта флутриафола в мерную колбу на 100 мл, растворяют навеску в ацетоне. Из полученного раствора флутриафола с концентрацией 100 мкг/мл готовят рабочие растворы с концентрациями 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 4 мкг/мл, 10 мкг/мл последовательным разведением в ацетоне.

Для вынесения в образец при определении полноты извлечения используют соответствующий стандартный раствор флутриафола в ацетоне.

#### 2.5.4. Построение градуировочного графика.

Для построения градуировочного графика зависимости высоты (площади) пика от концентрации флутриафола в растворе в хроматограф вводят по 1 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 флутриафола в градуированном растворе (мкг/мл).

#### 2.5.5. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта.

Силикагель прогревают в термостате при 120<sup>0</sup>С в течение 3-х часов и охлаждают до комнатной температуры. На дно стеклянной колонки помещают стекловату, слой 0.5 см безводного сульфата натрия и заполняют через воронку суспензией 5 г силикагеля в 25 мл гексана при открытом кране колонки, сверху наносят слой 1 см безводного сульфата натрия. Затем колонку промывают 10 мл смеси гексан : ацетон в соотношении 3 : 2 и закрывают кран, когда уровень растворителя достигнет верхнего края сорбента. Колонка готова к работе.

#### 2.5.6. Проверка хроматографического поведения флутриафола на колонке с силикагелем.

В подготовленную колонку пипеткой вносят 1 мл стандартного раствора флутриафола и дают впитаться. После этого в колонку вносят 10 мл смеси гексан : ацетон (1:3), элюят отбрасывают. Флутриафол элюируют 40 мл смеси гексан : ацетон (1:5), отбирая фракции по 5 мл, упаривают досуха, остаток растворяют в 1 мл ацетона и хроматографируют. Фракции, содержащие флутриафол, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 1 мл ацетона и хроматографируют. Рассчитывают содержание флутриафола в элюате, определяя его полноту извлечения из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание: профиль вымывания флутириафола может изменяться при использовании силикагеля новой партии или другой марки.

#### 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. Экстракция и очистка экстрактов

2.6.1.1. Зерно гороха. Навеску размолотого в лабораторной мельнице гороха (20 г) помещают в коническую колбу объемом 250 мл и экстрагируют флутириафол 50 мл ацетона на ультразвуковой установке в течение 15 мин. Надосадочную жидкость фильтруют через складчатый фильтр "красная лента" в делительную воронку объемом 500 мл. Экстракцию повторяют дважды порциями по 50 мл ацетона. После третьей экстракции осадок переносят на фильтр, колбу ополаскивают 20 мл ацетона и 50 мл дистиллированной воды и фильтруют смыки через фильтр с осадком. К объединенному экстракту добавляют 50 мл дистиллированной воды и промывают 10 мл гексана, встряхивая делительную воронку в течение 2-х минут. После полного разделения слоев верхний гексановый слой отбрасывают и промывку повторяют дважды порциями по 10 мл гексана. Промытый гексаном водно-ацетоновый экстракт концентрируют на роторном испарителе до объема 130-150 мл и переносят в делительную воронку, ополаскивая концентратор. Перезэкстрагируют

флутриафол в хлористый метилен трижды порциями по 50 мл, встряхивая воронку в течение 2-х минут. Нижний органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия, промывают осушитель 10 мл хлористого метиlena. Объединенный дихлорметановый экстракт упаривают досуха и растворяют в 1-2 мл ацетона. При необходимости проводят очистку на колонке с силикагелем, по п. 2.6.2.

2.6.1.2 Семена подсолнечника. Навеску очищенных от лузги и размолотых на лабораторной мельнице семян (20 г) помещают в коническую колбу объемом 500 мл и экстрагируют флутриафол 150 мл охлажденной смеси гексан : ацетон в соотношении 2 : 1 на ультразвуковой установке в течение 15 мин (ванна установки заполнена водой со льдом). Экстракт фильтруют через складчатый фильтр "белая лента" в делительную воронку объемом 1000 мл. Экстракцию повторяют дважды порциями экстрагента по 150 мл, после чего остаток переносят на фильтр, колбу и осадок промывают 20-30 мл экстрагирующей смеси. К объединенному экстракту в делительную воронку добавляют 100 мл дистиллированной воды и встряхивают в течение 2-х минут. После полного разделения фаз нижний водно-ацетоновый объем собирают, при этом эмульсию пограничного слоя разбивают непосредственно перед тем, как предстоит отбор эмульсионного слоя, внесением в него очень малого количества хлористого натрия. Оставшийся в делительной воронке гексановый слой промывают дважды 50 мл водного ацетона (50:50), который собирают. Объединенный водно-ацетоновый экстракт упаривают на роторном испарителе до объема 150-180 мл и переносят в делительную воронку. Флутриафол переэкстрагируют в хлористый метилен трижды порциями по 50 мл, встряхивая делительную воронку в течение 2-х минут. Нижний органический слой собирают, фильтруя через слой безводного сульфата натрия, и выпаривают досуха на роторном испарителе. Сухой остаток растворяют в 1-2 мл ацетона и дальнейшую очистку проводят на колонке с силикагелем (п. 2.6.2).

2.6.1.3. Масло подсолнечника. 20 г масла помещают в делительную воронку объемом 500 мл, добавляют 100 мл охлажденной смеси гексан : ацетон в соотношении 2 : 1 и осторожно круговыми движениями перемешивают в течение 2-3 минут. Затем добавляют 50 мл дистиллированной воды и встряхивают воронку в течение двух минут, происходит разделение слоев и перераспределение флутриафола в водно-ацетоновый слой, который собирают. К гексановому слою в делительной воронке добавляют 50 мл водного ацетона (50:50), интенсивно встряхивают и после полного разделения фаз собирают водно-ацетоновый слой. Промывку гексанового слоя повторяют. Собранный объединенный экстракт переносят в чистую делительную воронку и переэкстрагируют флутриафол хлористым метиленом трижды порциями по 50 мл. Органический слой фильтруют через безводный сульфат натрия и выпаривают досуха на роторном испарителе. Сухой остаток растворяют в 1-2 мл ацетона и дальнейшую очистку проводят на колонке с силикагелем (п. 2.6.2).

## 2.6.2. Очистка экстрактов на колонке с силикагелем

Растворенный в 1-2 мл ацетона сухой остаток пипеткой количественно переносят в хроматографическую колонку, колбочку ополаскивают еще 1-2 мл ацетона и вносят в колонку, после чего открывают кран и дают раствору впитаться в сорбент. Затем в колонку вносят 10 мл смеси гексан : ацетон в соотношении 2 : 3, элюят отбрасывают. Флутриафол элюируют 15 мл смеси гексан : ацетон в соотношении 1 : 5, элюят собирают и упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и хроматографируют.

### 2.6.3. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф «Цвет-550М» с ТИД или аналогичный. Колонка стеклянная 1 м x 3 мм, заполненная хроматоном N-Super (0.125-0.160 мм) с 5% SE-30.

Температура колонки 230<sup>0</sup>С, испарителя 240<sup>0</sup>С, детектора 380<sup>0</sup>С.

Скорость газа-носителя (азот) через колонку 30 см<sup>3</sup>/мин.

Расход водорода 16 см<sup>3</sup>/мин.

Расход воздуха 200 см<sup>3</sup>/мин.

Шкала электрометра 16x10<sup>10</sup>.

Объем вводимой пробы 1 мкл. Время удерживания флутриафола 2 28 мин.

### 2.6.6. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки, содержание флутриафола в пробе (Х, мг/кг) вычисляют по формуле:

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

где H<sub>1</sub> – высота (площадь) пика флутирафола в стандартном растворе, мм;

H<sub>2</sub> – высота (площадь) пика флутирафола в анализируемой пробе, мм;

V – объём экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

P – навеска анализируемого образца, г;

C – концентрация флутирафола в стандартном растворе, мкг/мл.

Содержание остаточных количеств флутирафола в анализируемом образце вычисляют как среднее из 2-х параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор флутирафола 100 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., Карпова Л.М.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург.