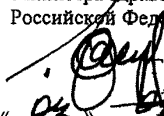


УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации
Первый заместитель
Министра здравоохранения
Российской Федерации

« 04 » 2004 г.

Дата введения: с 1 июля 2004 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания МУК 4.1. /P92 - 04

1. Вводная часть

Фирма производитель: Дюпон де Немур

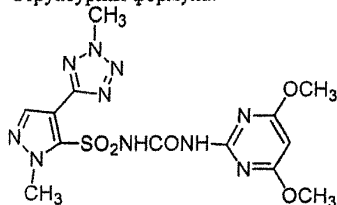
Торговое название: Гулливер

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°C.

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

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

Растворимость в воде (мг/л, 20°C): 72,3 (pH 5); 1050 (pH 7); 6536 (pH 9)

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

Константа диссоциации рКа (при 25°C) – 3.6

Вещество медленно гидролизруется в водных растворах, DT₅₀ (сутки, при 25°C) 89 (рН 5), 124 (рН 7), 132 (рН 9).

Азимсульфурон разлагается в почве в результате фотолиза, почвенного метаболизма и химического гидролиза. DT₅₀ в затопленной почве составляет 25 суток (при 25°C), DT₅₀ во влажной почве 18 – 134 суток в зависимости от температуры и степени увлажнения.

Быстро разлагается в растениях.

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

Краткая токсикологическая характеристика: Азимсульфурон относится к малоопасным соединениям по острой оральной (ЛД₅₀ для крыс составляет более 5000 мг/кг), дермальной (ЛД₅₀ для кроликов более 2000 мг/кг) и умеренно опасным по ингаляционной (ЛК_{50,4} часа, для крыс более 5900 мг/м³) 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 растениях. Рекомендуется в качестве послевсходовый гербицида для подавления однодольных (посовидные) 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 кушения.

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 Азимсульфурана 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.

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $r=0,95$, $n=20$				
	Предел обнаружения, мг/кг (мг/л)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/л)	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S	Доверительный интервал среднего результата, %, \pm
Вода	0,005	0,005 – 0,050	84,29	0,111	$84,29 \pm 0,52$
Почва	0,010	0,010 - 0,100	80,85	0,040	$80,85 \pm 1,86$
Зерно	0,010	0,010 - 0,100	82,69	0,046	$82,69 \pm 2,16$
Солома	0,020	0,020 - 0,200	84,43	0,051	$84,43 \pm 2,38$

Таблица 2

Полнота определения Азимсульфуона 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), \pm	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 $\pm 0,038$ 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°C 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 свежеперегранные ацетонитрил и деионизированную бидистиллированную воду.

2.3.2.1. Приготовление деионизированной бидистиллированной воды.

Бидистиллят из дистиллятора заливают в круглодонную колбу подходящего объема, 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 объем 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 Азимсульфурана в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в хлористом метиле и доводят объем до метки хлористым метилом (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 объем 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 Азимсульфурана в растворе) методом последовательного разбавления ацетонитрилом из стандартного раствора Азимсульфурана 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 Азимсульфурана.

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, рН 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 рН (по рН-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 Азимсульфурана 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 Азимсульфурана на концентрирующем патроне Диапак-С.

При отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов проводят изучение хроматографического поведения Азимсульфурана на патроне. Для этого из стандартного раствора Азимсульфурана 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°C. 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°C. 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°C 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 °C.

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 ротаторном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 35°C. 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°C. 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 Азимсульфурана. 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°C 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 ротационном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 35°C. 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°C до объема 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 слоев. 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 Азисульфурон 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°C. 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°C до объема приблизительно 1 мл.

В концентратор добавляют 100 мл щелочного фосфатного буфера (рН 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 рН 1,7-1,8 (по рН-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°C. 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 x 25 см, зернением 5 мкм или альтернативная колонка Symmetry Shield RP-18, 4,6 мм x 25 см, зернением 5 мкм.

Температура колонки: 25°C.

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 Азимсульфурана рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_{пр} \cdot A \cdot V}{100 \cdot S_{ст} \cdot m} \times P$$

где X - содержание Азимсульфурана в пробе, мг/кг или мг/л;

S_{ст} - высота (площадь) пика стандарта, мм;

S_{пр} - 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 Азимсульфурана 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.