

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,
Первый заместитель министра здравоохранения
Российской Федерации

24 июня 2003 г.

Г.Г. Онищенко

МУК 4.1.4/144-93

Дата введения: 30 июня 2003 г.

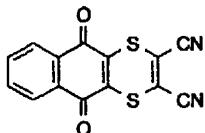
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств дитианона в воде, почве, яблоках, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур методом высокоеффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоеффективной жидкостной хроматографии для определения в воде, почве, яблоках, зерне и зеленой массе зерновых колосовых культур массовой концентрации дитианона в диапазонах 0,0025 - 0,025 мг/дм³; 0,02 - 0,2 мг/кг; 0,02 - 0,2 мг/кг; 0,02 - 0,2 мг/кг; 0,04 - 0,4 мг/кг.

Дитианон - действующее вещество препарата ДЕЛАН, СК (750 г/л),
фирма производитель БАСФ, Германия.

5,10-дигидро-5,10-диоксонафто[2,3-*b*]-1,4-дитиин-2,3-дикарбонитрил (IUPAC)



C₁₄H₄N₂O₂S₂

Мол. масса 296,3

Твердое вещество темно-коричневого цвета без запаха. Температура плавления 225⁰С. Давление паров при 25⁰С: 2,7×10⁻⁶ мПа. Плотность 1576 кг/м³. Растворимость в органических растворителях при 20⁰С (г/дм³): хлороформ - 12, бензол - 8, ацетон - 10; слабо растворим в метаноле и дихлорметане. Растворимость в воде при 20⁰С - 0,14 мг/дм³. Разрушается в щелочной среде, концентрированных кислотах и при продолжительном нагревании; DT₅₀ - 12,2 часа (pH 7, 25⁰С). Быстро разрушается в воде с большим содержанием органических веществ. Период полураспада в воде — приблизительно 1 день.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD₅₀) для крыс – 678 мг/кг, для мышей – 511 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD₅₀) для крыс - 2000 мг/кг, для мышей 3200 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK₅₀) для крыс – более 2086 мг/м³. Препарат раздражает кожу, особенно слизистые оболочки глаз.

Область применения препарата

Делан - фунгицид широкого спектра действия из класса хинонов, применяется на фруктовых, цитрусовых культурах, винограде, хмеле, кофе, пшенице и декоративных растениях в период после цветения.

Гигиенические нормативы:

ПДК в воде водоемов – 0,005 мг/дм³.

ОДК в почве – 0,02 мг/кг

МДУ в яблоках, персиках - не допускается.

1. Метрологические характеристики метода

Метрологические характеристики метода представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Метрологические параметры

Анализируемый объект	Метрологические параметры, Р = 0,95, n = 24				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения %	Стандартное отклонение, S, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Вода	0,0025*	0,0025 – 0,025	84,2	5,10	±8,6
Почва	0,02**	0,02 – 0,2	91,9	2,21	±3,9
Яблоки	0,02**	0,02 – 0,2	93,8	1,49	±2,8
Зерно пшеницы	0,02**	0,02 – 0,2	89,1	2,89	±5,4
Зеленая масса	0,04**	0,04 – 0,4	88,3	3,87	±7,4

* Предел обнаружения в хроматографируемом объеме 7,5 нг (хроматограф Милихром);

** Предел обнаружения в хроматографируемом объеме – 2 нг (хроматограф «Jasko», Япония).

Таблица 2

Полнота извлечения дитианона из воды, почвы, яблок,
зерна и зеленой массы пшеницы
(6 повторностей для каждой концентрации)

Среда	Внесено дитианона мг/кг (дм ³)	Обнаружено дитианона мг/кг (дм ³)	Полнота извлечения, %
1	2	3	4
Вода	0,0025	0,0020 \pm 0,0001	80,0
	0,005	0,0044 \pm 0,0001	88,0
	0,010	0,0084 \pm 0,0002	84,2
	0,025	0,0217 \pm 0,0005	86,7
Почва	0,02	0,0176 \pm 0,0018	88,9
	0,04	0,0362 \pm 0,0027	90,5
	0,1	0,0938 \pm 0,0049	93,8
	0,2	0,1890 \pm 0,0145	94,5
Яблоки	0,02	0,0184 \pm 0,0016	92,0
	0,04	0,0371 \pm 0,0024	92,7
	0,1	0,0948 \pm 0,0050	94,8
	0,2	0,191 \pm 0,0187	95,5
Зерно пшеницы	0,02	0,0167 \pm 0,00094	83,5
	0,04	0,0359 \pm 0,00166	89,7
	0,1	0,0912 \pm 0,00423	91,2
	0,2	0,1840 \pm 0,00841	92,0
Зеленая масса	0,04	0,0340 \pm 0,0016	85,1
	0,08	0,0693 \pm 0,0041	86,6
	0,2	0,1806 \pm 0,0072	90,3
	0,4	0,3648 \pm 0,0089	91,2

2. Метод измерений

Методика основана на определении вещества с помощью высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после экстракции из анализируемой пробы воды хлороформом, почвы и растительного

материала – ацетоном в кислой среде, очистки экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в технологии выращивания зерновых колосовых культур и яблок.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реагенты и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Jasko, Япония)

Жидкостной хроматограф Милихром (Россия) с ультрафиолетовым детектором

Весы аналитические ВЛА-200

ТУ 25-7405.0009-89

Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности +/- 0,038 г

Колбы мерные вместимостью 50, 100, 250 и 1000 см³

ГОСТ 1770

Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 см³

Пробирки градуированные вместимостью 5 или 10 см³

ГОСТ 1770

Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 10, 25, 50, 100, 200, 500 и 1000 см³

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реагенты

Дитианон с содержанием действующего вещества 99,2% (Шелл, Великобритания)

Ацетон, чда

ГОСТ 2603

Ацетонитрил для хроматографии, хч

ТУ-6-09-4326-76

Вода бидистиллированная, дезонизованная или

перегнанная над KMnO ₄	
н-Гексан, хч	ТУ-6-09-3375
Кислота хлороводородная (соляная), хч	ГОСТ 6552
Кислота уксусная, ледяная, хч	ГОСТ 61
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Силикагель для колоночной хроматографии, L 40-100 меш, Хемапол, Чехия	
Хлороформ	Фармакопея СССР

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851-78
Бумажные фильтры "красная лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Вата хлопковая	
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147
Воронки делительные вместимостью 200, 500 и 1000 см ³	ГОСТ 25336
Воронки конусные диаметром 30-37, 60 и 100-120 мм	ГОСТ 25336
Гомогенизатор	ГОСТ 15906
Груша резиновая	
Дефлэгматор елочный	ГОСТ 20729
Колба Бунзена	ГОСТ 56145
Колбы плоскодонные вместимостью 200 – 250 см ³	ГОСТ 9737
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 100 и 500 и 1000 см ³	ГОСТ 9737
Колонка стеклянная, внутренним диаметром 15-18 мм, высотой 25 см	
Контактный термометр	ГОСТ 9871
Мельница лабораторная электрическая	ТУ 46-22-236-79
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696

Печь муфельная

Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 50

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ТУ 25-11-917-74
ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi,

Швейцария

Сито с диаметром отверстий 1мм

Стаканы химические, вместимостью 100, 400 и 1000 см³ ГОСТ 25336

Стекловата

Стеклянные палочки

Установка для перегонки растворителей

Набор для фильтрации растворителей через мембрану

Холодильник водяной, обратный ГОСТ 23932

Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см,
внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Altex
Ultrasphere ODS, зернением 5 мкм. Предколонка стальная,
длиной 4,5 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая
силикагель, химически связанный с октадецилсиланом

Хроматографическая колонка стальная, длиной 64 см,
внутренним диаметром 2,0 мм, содержащая Сепарон C18,
зернением 5 мкм

Шкаф сушильный ТУ 64-1-1411-76

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа
вместимостью 50 – 100 мм³

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования
с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности,
установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися
веществами по ГОСТу 12.1005.

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, опыт работы на жидкостном хроматографе.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха $(20\pm5)^\circ\text{C}$ и относительной влажности не более 80%.
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление растворов, подвижных фаз для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографических колонок, установление градуировочных характеристик, подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов, проверка хроматографического поведения вещества на колонке с силикагелем.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.1.2. Очистка ацетона

Растворитель сушат над молекулярными ситами 4А и подвергают фракционной перегонке на ректификационной колонне, целиком собранной из стекла с числом теоретических тарелок не менее 30. Сосуд для перегонки погружают в водяную баню и через приемник пропускают медленно струю сухого азота. Затем температуру водяной бани повышают до $70 - 75^\circ\text{C}$ и прибор промывают парами ацетона, после чего холодильник заполняют водой. До начала отбора главной фракции приемник несколько

раз промывают дистиллятом. Перегонку продолжают до тех пор, пока в сосуде для перегонки не останется приблизительно 100 см³ ацетона. Температуру водяной бани следует снижать по мере уменьшения объема ацетона, во всех случаях она не должна превышать температуру кипения ацетона более чем на 20°.

7.1.3. Очистка хлороформа

Хлороформ промывают последовательно 5%-ным водным раствором карбоната натрия, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют или подвергают ректификационной перегонке на колонне с числом теоретических тарелок не менее 50.

7.1.4. Очистка н-гексана

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты, до тех пор, пока она не перестанет окрашиваться в желтый цвет, водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над поташом.

7.2. Приготовление элюента для колоночной хроматографии

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 500 - 600 см³ хлороформа, вносят 1 см³ ледяной уксусной кислоты, доводят до метки хлороформом, тщательно перемешивают.

7.3. Подготовка подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 575 см³ ацетонитрила, 2 см³ уксусной кислоты, добавляют 423 см³ бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.4. Подготовка подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 550 см³ ацетонитрила, 100 см³ метанола, 2 см³ уксусной кислоты, добавляют 348 см³ бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.5. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой № 1 или № 2 (приготовленной по п. 7.3 или п. 7.4.) в течение 30 минут при скорости подачи растворителя 0,1 см³/мин или 1 см³/мин до установления стабильной базовой линии.

7.6. Подготовка смеси растворителей для приготовления стандартных растворов и растворения образцов

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ помещают 990 см³ метанола, добавляют 10 см³ уксусной кислоты, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.7. Приготовление градуировочных растворов

7.7.1. Исходный раствор дитианона в ацетонитриле для градуировки (концентрация 100 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,01 г дитианона, растворяют в 50-70 см³ ацетонитрила, доводят до метки этим же растворителем, тщательно перемешивают. Раствор хранится в холодильнике в течение месяца.

Рабочие градуировочные растворы дитианона готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного стандартного раствора.

7.7.2. Серия А (измерение по п. 9.5.1)

Рабочие градуировочные растворы № 1 - 4 (концентрация 2.5 – 25.0 мкг/см³).

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 2.5, 5.0, 10.0 и 25.0 см³ исходного стандартного раствора дитианона в ацетонитриле с концентрацией 100 мкг/см³, доводят до метки подвижной фазой № 1 (приготовленной по п.7.3), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 1 - 4 с концентрацией дитианона 2.5, 5.0, 10.0 и 25.0 мкг/см³.

Рабочие стандартные растворы хранятся в холодильнике в течение 5-ти дней.

7.7.3. Серия Б (измерение по п. 9.5.2)

7.7.3.1. Раствор № 5 дитианона для градуировки (концентрация 10 мкг/см³). В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ исходного стандартного раствора дитианона с концентрацией 100 мкг/см³ (п. 7.7.1.), разбавляют ацетонитрилом до метки. Раствор хранится в холодильнике в течение 5-ти дней.

7.7.3.2. Рабочие градуировочные растворы № 6 - 9 (концентрация 0.1 – 1.0 мкг/см³). В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают по 1.0, 2.0, 5.0 и 10.0 см³ стандартного раствора № 1 с концентрацией 10 мкг/см³ (п. 7.7.1), доводят до метки смесью метанол-уксусная кислота (приготовленной по п. 7.6), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 6 - 9 с концентрацией дитианона 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 мкг/см³, соответственно. Растворы хранятся в холодильнике в течение 3-х дней.

7.8. Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражющую зависимость площади или высоты пика (отн. единицы, мм) от концентрации дитианона в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки №№ 1 – 4 или 6 - 9.

В инжектор хроматографа вводят по 3 или 20 мм³ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 9.5.1 или 9.5.2. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений.

7.9. Подготовка колонок А и Б с силикагелем для очистки экстрактов

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 15-18 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 15 г силикагеля в 50 см³ хлороформа (колонка А) или 10 г силикагеля в 20 см³ хлороформа (колонка Б). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку (А или Б) промывают 50 см³ элюента для колоночной хроматографии (приготовленного по п. 7.2) со скоростью 1-2 капли в сек. После этого колонка готова к работе.

7.8. Проверка хроматографического поведения дитианона на колонках с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 см³ помещают 5 см³ стандартного раствора № 5 с концентрацией дитианона 10 мкг/см³ (для проверки поведения дитианона на колонке А) или 1 см³ стандартного раствора № 9 с концентрацией дитианона 1 мкг/см³ (для проверки поведения дитианона на колонке Б). Упаривают растворитель досуха, остаток растворяют в 1 см³ элюента для колоночной хроматографии (приготовленного по п. 7.2.) и вносят в подготовленную колонку А или Б, соответственно.

Промывают колонку 50 см³ элюента (приготовленного по п. 7.2) со скоростью 1-2 капли в сек. Фракционно (по 5 см³) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 1 см³ подвижной фазы для ВЭЖХ № 1 (приготовленной по п. 7.3) или смеси растворителей (приготовленной по п. 7.6) и анализируют на содержание дитианона соответственно по п. 9.5.1 или 9.5.2.

Фракции, содержащие дитианон, объединяют вместе, упаривают досуха, остатки растворяют в 1 см³ подвижной фазы для ВЭЖХ № 1 (приготовленной по п.

7.3) или смеси растворителей (приготовленной по п. 7.6) и вновь анализируют на содержание дитианона соответственно по п. 9.5.1 или 9.5.2.

Рассчитывают содержание вещества в элюатах, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Проверку хроматографического поведения дитианона следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. 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 г.).

Пробы воды необходимо анализировать в день отбора.

Образцы почвы и растительной продукции можно хранить в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4⁰С не более суток вне зависимости от сроков хранения продукции.

Для длительного хранения образцы замораживают (лучше жидким азотом) и хранят в морозильной камере при -10⁰С в течение месяца, предварительно определяется содержание влаги.

Непосредственно перед анализом образцы зерна, яблок, зеленой массы измельчают, воду (при наличии взвеси) фильтруют через неплотный бумажный фильтр, сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

500 см³ (G) анализируемого образца воды помещают в делительную воронку вместимостью 1000 см³, добавляют 50 см³ концентрированной соляной кислоты и 100 см³ хлороформа, интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2-х мин. После полного разделения фаз нижний органический слой собирают в коническую колбу вместимостью 250 см³. Оставшуюся в делительной воронке водную фазу подвергают экстракции новыми порциями хлороформа объемом 50 см³ еще дважды.

Объединенный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия, переносят в круглодонную колбу, содержащую 0,1 см³ уксусной кислоты и упаривают досуха на

ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 45⁰С. Далее проводят очистку согласно п. 9.4.2.

9.2. Почва, яблоки, зеленая масса

Навеску почвы, гомогенизированной пробы яблок массой 50 г (G), зеленой массы массой 25 г (G) смешивают в стакане со 100 см³ ацетона и 5 см³ соляной кислоты. Смесь тщательно перемешивают и помещают на аппарат для встряхивания на 30 мин. Смесь фильтруют, остаток на фильтре промывают 10 см³ ацетона. Процедуру экстракции и промывки повторяют еще раз со 110 см³ ацетона. Экстракты и промывки переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³ (Vex1) и доводят ацетоном до метки. Далее проводят очистку согласно п. 9.4.1.

ПРИМЕЧАНИЕ: В отдельных случаях (например, яблоки) процесс экстракции может быть улучшен при добавлении 50 см³ соляной кислоты вместо 5 см³. В этом случае проводят повторную экстракцию с использованием 80 см³ ацетона.

В зависимости от типа и состава растительного материала может быть сделано следующее упрощение: 100 см³ ацетонового раствора экстрагируют 1 раз 150 см³ хлороформа. Хлороформную фазу осушают и упаривают на ротационном вакуумном испарителе почти досуха. В этом случае далее очистку проводят согласно п. 9.4.2.

9.3. Семена зерновых культур

Навеску 50 г (G) измельченного зерна смешивают в стакане со 110 см³ хлороформом и 5 см³ соляной кислоты. Смесь перемешивают в течение 10 мин, охлаждают до 0⁰С и затем фильтруют через бумажный фильтр. Остаток на фильтре промывают 20 см³ хлороформа. Процедуру экстракции и промывки повторяют со 130 см³ хлороформа. Объединенные экстракты и промывки встряхивают в делительной воронке вместимостью 500 см³ со 100 см³ воды, содержащей 5 см³ соляной кислоты. Нижнюю органическую фазу фильтруют через сульфат натрия, осушитель промывают 20 см³ хлороформа. Объединив экстракт и промывку, упаривают их на ротационном вакуумном испарителе почти досуха. Очистку проводят согласно п. 9.4.2.

9.4. Очистка экстракта

9.4.1. Перераспределение в н-гексане и хлороформе

100 см³ раствора ацетона (Vr1), полученного по п. 9.2, переносят в делительную воронку на 500 см³, добавляют 200 см³ воды, 100 см³ насыщенного раствора

хлористого натрия и 100 см³ гексана, смесь встряхивают и отделяют верхнюю гексановую фазу. Затем водную фазу встряхивают со 100 см³ хлороформа и нижнюю (органическую) фазу объединяют с гексановым экстрактом.

Объединенный экстракт, осущенный безводным сульфатом натрия, упаривают на ротационном вакуумном испарителе почти досуха. Далее продолжают очистку согласно п. 9.4.2.

9.4.2. Очистка на колонке с силикагелем

Остатки в колбах, полученные по п. 9.1, 9.3 и 9.4.1, с помощью 5 см³ смеси хлороформ-уксусная кислота, 999:1 (элюента для колоночной хроматографии, приготовленного по п. 7.2) количественно переносят на колонку А с силикагелем (остаток по п. 9.1) или колонку Б (остатки по п. 9.3. и 9.4.1). Колонку А промывают 40 см³, колонку Б - 70 см³ элюента (приготовленного по п. 7.2). Первые 20 см³ основного элюата отбрасывают, оставшееся количество (колонка А - 20 см³, колонка Б - 50 см³) собирают в грушевидную колбу вместимостью 100 см³, предварительно добавив в нее 0,1 см³ уксусной кислоты. Элюат упаривают почти досуха, остаток растворителя отдувают в слабом токе азота (или воздуха). Сухой остаток экстракта воды растворяют в 0,5 см³ ацетонитрила; почвы, яблок, зерна и зеленой массы - в 4 см³ (Vend) смеси метанол-уксусная кислота 99:1 (по объему) и анализируют на содержание дитианона соответственно по п. 9.5.1 или 9.5.2.

9.5. Условия хроматографирования

9.5.1. Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором Милихром (Россия)

Колонка стальная, длиной 64 мм, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Сепарон C18, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-уксусная кислота (575:423:2, по объему)

Скорость потока элюнгта: 0,1 см³/мин

Рабочая длина волны: 254 нм

Чувствительность: 0,2 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 3 мм³

Ориентировочный удерживаемый объем дитианона 630 мм³

Линейный диапазон детектирования: 7,5 - 75 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем стандартный раствор с концентрацией

25 мкг/см³, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ N 1.

9.5.2. Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором фирмы Jasko (Япония)

Предколонка стальная длиной 4,5 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Altex Ultrasphere ODS, зернением 5 мкм

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Altex Ultrasphere ODS, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил-метанол—вода-уксусная кислота (560:100:348:2, по объему)

Скорость потока элюента: 1,0 см³/мин

Рабочая длина волны: 254 нм

Чувствительность: 0,001 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 мм³

Ориентировочное время выхода дитианона: 10 мин

Линейный диапазон детектирования 2 - 20 нг

Образцы, дающие пики, большие, чем стандартный раствор дитианона с концентрацией 1,0 мкг/см³, разбавляют смесью растворителей (приготовленной по п. 7.6).

10. Обработка результатов анализа

Содержание дитианона рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

а). почва, яблоки, зеленая масса растений

$$X = \frac{C * Vex1 * Vend}{Vr1 * G}$$

б). вода, зерно

$$X = \frac{C * Vend}{G}$$

где: X - содержание дитианона в пробе, мг/кг; мг/дм³;

C - концентрация дитианона в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику, мкг/см³;

Vex1 - общий объем экстракта по п. 9.2, см³;

Vr1 - аликовотная часть экстракта, взятая на анализ по п 9.4.1, см³;

Vend - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;

G - масса (или объем) анализируемого образца, г (см³).

11. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335-95. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа.

12. Разработчики.

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Ларькина М.В. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана Минздрава РФ) - вода;

Тутельян В.А., Хотимченко С.А., Бессонов В.В. Институт питания РАМН, г. Москва - почва, яблоки, зерно, зеленая масса.