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

Выпуск 2
Часть 2
МУК 4.1.1217—4.1.1220—03

Издание официальное

Москва • 2005

gost.e-ecolog.ru

**Федеральная служба по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний

Выпуск 2
Часть 2
МУК 4.1.1217—4.1.1220—03

ББК 51.23+51.21
О60
О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005.—71 с.—Вып. 2.—Ч. 2.

ISBN 5—7508—0578—6

1. Подготовлены: 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. А. В. Довгилевич); при участии Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России (А. П. Веселов). Разработчики методик указаны в конце каждой из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по госсанэпиднормированию при Минздраве России.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко 16 марта 2003 г.

4. Введены с 1 июля 2003 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.23+51.21

ISBN 5—7508—0578—6

© Роспотребнадзор, 2005
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005

Содержание

Определение остаточных количеств дифлубензурона в воде, почве, пастбищных травах и люцерне методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1217—03 4

Определение остаточных количеств изоксафлютола и его метаболита RPA-202248 в воде; изоксафлютола (в виде RPA-202248) в почве, зерне и зеленой массе кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, а также изоксафлютола в воде методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1218—03 14

Измерение концентраций изоксафлютола (RPA 201772) в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1219—03 34

Измерение остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов (клетодим сульфона и клетодим сульфоксида) в воде, почве, корнеплодах моркови, столовой, сахарной и кормовой свеклы, клубнях картофеля, бобах сои, луке-репке, зеленой массе растений, семенах масличных культур и растительном масле хроматографическими методами: МУК 4.1.1220—03 41

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра
здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
16 марта 2003 года
Дата введения: 1 июля 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов (клетодим сульфона и клетодим сульфоксида) в воде, почве, корнеплодах моркови, столовой, сахарной и кормовой свеклы, клубнях картофеля, бобах сои, луке-репке, зеленой массе растений, семенах масличных культур и растительном масле хроматографическими методами

Методические указания
МУК 4.1.1220—03

1. Вводная часть

1.1. Клетодим.

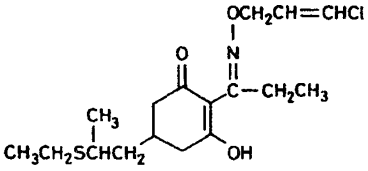
Фирма производитель: ТОМЕН АГРО ИНК (Япония).

Торговое название: СЕЛЕКТ, КЭ, ТМ-5403, КЭ, ЦЕНТУРИОН КОМБИ, КЭ.

Действующее вещество: Клетодим (ISO).

(E,E)-(±)-2-{1-[[3-хлор-2-(пропенил)окси]имино]пропил}-5-[2-(этилтио)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1 (IUPAC).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{26}ClNO_3S$.

Молекулярная масса: 359,92

Химически чистый клетодим представляет собой вязкую жидкость светло-желтого цвета со слабым ароматическим запахом.

Агрегатное состояние в воздухе – аэрозоль + пары.

Удельная масса технического клетодима – 1 140 кг/м^3.

Давление паров при 25 °С менее 0,013 мПа.

Разлагается при температуре ниже точки кипения.

Растворимость в воде 54 мг/л при pH = 7.

Растворимость в органических растворителях: более 900 г/л в большинстве растворителей.

Коэффициент распределения в системе октанол–вода – $1,5 \cdot 10^7$.

Температура вспышки 62 °С.

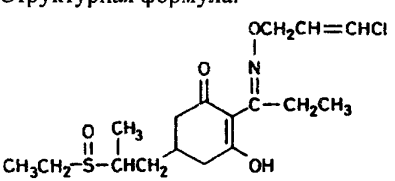
Клетодим нестабилен. Разлагается под действием УФ-света, при повышенных температурах и экстремальных значениях pH. В аэробных условиях окисляется и разлагается с периодом полураспада от 1 до 3 дней. Относительно устойчив в водных растворах с pH 7—10 при отсутствии солнечного света. Период полураспада в результате гидролиза в водных растворах с pH 7 и pH 9 составляет 300 и 310 дней соответственно.

1.2. Клетодим сульфоксид.

Название по ИСО: клетодим сульфоксид.

Название действующего вещества по ИЮПАК: (E,E)-(±)-2-{1-[[3-хлоро-2-(пропенил) окси] имино] пропил}-5-[2-(этилсульфоксид) пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{26}ClNO_4S$.

Молекулярная масса: 375,9.

Химически чистый клетодим сульфоксид представляет собой белое кристаллическое вещество.

Растворимость в органических растворителях: хорошо растворим в большинстве органических растворителей.

Является основным метаболитом при разложении клетодима в почве в аэробных условиях, в воде (при условиях, способствующих фо-

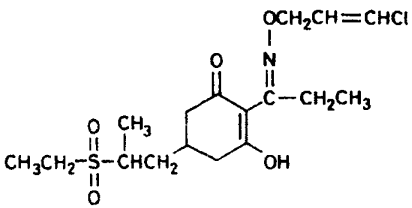
толизу) и растениях. Клетодим сульфоксид нестабилен. Период полураспада в почве от 2,5 до 20 дней.

1.3. Клетодим сульфон.

Название по ИСО: клетодим сульфон.

Название действующего вещества по ИЮПАК: (E,E)-(±)-2-{1-[[3-хлоро-2-(пропенил) окси] имино] пропил}-5-[2-(этилсульфон)пропил]-3-гидрокси-2-циклогексен-1.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{26}ClNO_5S$.

Молекулярная масса: 391,9.

Химически чистый клетодим сульфоксид представляет собой белое кристаллическое вещество.

Растворимость в органических растворителях: хорошо растворим в большинстве органических растворителей.

Является одним из основных метаболитов при разложении клетодима в почве в аэробных условиях. Клетодим сульфоксид нестабилен. Период полураспада в почве от 1 до 2 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Клетодим относится к малотоксичным веществам ($ЛД_{50}$ для крыс – 1 360—1 630 г); малотоксичен для диких животных, птиц и пчел; $ЛК_{50}$ (8 дней) для перепелов > 6 000 мг/кг. $СК_{50}$ (96 ч, мг/л) для форели 56.

Гигиенические нормативы:

ПДК в воде водоемов – 0,002 мг/ $дм^3$;

ОДК в почве – 0,1 мг/кг.

МДУ: свекла, морковь, лук, семена сои, лен долгунец (семена) – 0,1 мг/кг;

картофель, подсолнечник (семена, масло) – 0,2 мг/кг.

Область применения препарата. Послевсходовый гербицид для применения на широколистных культурах (свекле, картофеле, моркови, луке, льне, масличных культурах, бобовых и других) для борьбы с одно- и многолетними травами.

2. Методика измерения остаточных количеств клетодима и его основных метаболитов (клетодим сульфона и клетодим сульфоксида) в воде, почве, корнеплодах моркови, столовой, сахарной и кормовой свеклы, клубнях картофеля, бобах сои, луке-репке, зеленой массе растений, семенах масличных культур и растительном масле хроматографическими методами

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении клетодима и его основных метаболитов (клетодим сульфоксида и клетодим сульфона) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (вода, почва, корнеплоды моркови, столовой, сахарной и кормовой свеклы, клубни картофеля, бобы сои, лук-репка, зеленая масса растений) и методом газожидкостной хроматографии с использованием пламенно-фотометрического детектора (семена и растительное масло масличных культур) после экстракции из объектов анализа органическими растворителями и очистке экстрактов перераспределением в системе двух несмешивающихся жидкостей. При применении метода газожидкостной хроматографии проводится метилирование определяемых соединений диазометаном и очистка экстрактов на колонках с флоризилом.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых для борьбы с сорной растительностью, защиты овощных и масличных культур от вредителей и болезней (хлор- и фосфорорганические пестициды, амиды, тио- и дитиокарбаматы, синтетические пиретроиды).

Избирательность метода обеспечивается селективными детекторами и использованием неподвижных фаз различной полярности.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1, 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Анализируемый бъект	Предел обнаружения, мг/кг ($дм^3$)	Диапазон определяемых концентраций. мг/кг ($дм^3$)	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего при n = 5 и p = 0,95, %
Высокоэффективная жидкостная хроматография					
Вода (I способ)	0,001	0,001—0,2	83,9	6,5	9,0
Вода (II способ)	0,001	0,001—0,2	77,9	8,8	12,2
Почва (I способ)	0,04	0,04—2,0	75,6	9,5	13,2
Почва (II способ)	0,08	0,08—2,0	72,8	9,2	12,8
Свекла столовая (корнеплоды)	0,04	0,04—1,0	70,4	4,8	6,9
Свекла сахарная (корнеплоды)	0,04	0,04—1,0	72,6	6,9	9,6
Свекла кормовая (корнеплоды)	0,04	0,04—1,0	72,2	6,0	8,3
Морковь	0,04	0,04—1,0	74,7	7,9	11,0
Лук-репка	0,1	0,1—1,0	74,8	5,8	8,1
Картофель	0,1	0,1—1,0	74,1	7,2	10,0
Бобы сои	0,1	0,1—1,0	75,6	7,1	9,9
Зеленая масса растений	0,1	0,1—1,0	72,9	6,8	9,4
Газожидкостная хроматография					
Семена подсолнечника	0,1	0,1—2,0	74	8,6	10,2
Подсолнечное масло	0,1	0,1—1,0	75	10,1	12,3

Таблица 2

Полнота определения клетодима в воде, почве, корнеплодах свеклы, моркови, клубнях картофеля, луке-репке, бобах сои, зеленой массе растений, семенах и растительном масле подсолнечника и растительной продукции (n = 6, P = 0,95)*

Анализируемый объект	Внесено клетодима, мг/кг (л)	Определено клетодима, мг/кг (л)	Доверительный интервал, ± мг/кг (л)	Средняя полнота определения, %
1	2	3	4	5
Высокоэффективная жидкостная хроматография				
Вода (I способ)	0,001	0,0008	0,00006	80,6
	0,005	0,0042	0,00027	84,9
	0,1	0,0804	0,0055	80,4
	0,2	0,1652	0,0079	82,6
Вода (II способ)	0,001	0,00074	0,00009	74,1
	0,04	0,0303	0,0019	75,8
	0,1	0,0754	0,0033	75,4
	0,2	0,1632	0,0083	81,6
Почва (I способ)	0,04	0,0284	0,0038	71,0
	0,1	0,0822	0,0059	82,2
	0,4	0,292	0,029	73,1
	2,0	1,48	0,124	73,9
Почва (II способ)	0,08	0,0578	0,0073	72,2
	0,2	0,141	0,014	70,6
	0,4	0,282	0,020	70,7
	2,0	1,556	0,114	77,8
Корнеплоды столовой свеклы	0,04	0,0263	0,0016	65,8
	0,1	0,0737	0,0048	73,7
	0,4	0,284	0,0077	71,1
	1,0	0,711	0,023	71,1
Корнеплоды сахарной свеклы	0,04	0,0282	0,0028	70,5
	0,1	0,0724	0,0051	72,4
	0,4	0,294	0,018	73,6
	1,0	0,740	0,059	74,0
Корнеплоды кормовой свеклы	0,04	0,0269	0,0022	67,3
	0,1	0,076	0,06	76,0
	0,4	0,298	0,021	74,4
	1,0	0,710	0,026	71,0

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5
Морковь	0,04	0,0298	0,0031	74,5
	0,1	0,0778	0,0054	77,8
	0,4	0,288	0,016	72,0
	1,0	0,740	0,037	74,0
Клубни картофеля	0,1	0,0717	0,0030	71,7
	0,2	0,144	0,004	71,9
	0,4	0,294	0,021	73,6
	1,0	0,788	0,065	78,8
Лук-репка	0,1	0,073	0,003	73,0
	0,2	0,148	0,007	74,2
	0,4	0,309	0,021	77,4
	1,0	0,746	0,039	74,6
Бобы сои	0,1	0,073	0,003	73,0
	0,2	0,158	0,013	74,2
	0,4	0,310	0,015	77,4
	1,0	0,746	0,043	74,6
Зеленая масса растений	0,1	0,071	0,003	71,0
	0,2	0,149	0,009	74,7
	0,4	0,306	0,012	76,6
	1,0	0,806	0,063	80,6
Газожидкостная хроматография				
Семена подсолнечника	0,1	0,068	0,009	68
	0,2	0,150	0,015	75
	0,4	0,292	0,028	73
	1,0	0,800	0,063	80
Подсолнечное масло	0,1	0,060	0,009	60
	0,2	0,170	0,022	85
	0,4	0,324	0,036	81
	1,0	0,790	0,079	79
* При увеличении длительности анализа более 8 ч полнота определения снижается из-за нестабильности определяемых соединений.				

Метод ВЭЖХ

Минимально детектируемое количество клетодима и его метаболитов в хроматографируемом объеме – 4 нг.

Граница суммарной погрешности измерения – 15 %.

Линейный динамический диапазон детектирования 4—400 нг.

Метод ГЖХ

Минимально детектируемое количество клетодима и его метаболитов в хроматографируемом объеме – 5 нг.

Граница суммарной погрешности измерения – 12 %.

Линейный динамический диапазон детектирования 5—100 нг по логарифмической шкале.

2.2. Реактивы, растворы и материалы

Клетодим, аналитический (98 %, Томен Агро Инк., Япония)	
Клетодим сульфон, аналитический (98 %, Томен Агро Инк., Япония)	
Клетодим сульфоксид, аналитический (98 %, Томен Агро Инк., Япония)	
Азот газообразный высокой чистоты	ТУ 6-16-40-14—88
Аммиак водный, чда	ГОСТ 3760—79
0,4 Н раствор аммиака в воде	
Ацетон, осч	ТУ 6-09-3513—82
Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, ОП-3, осч	ТУ 6-09-3534—74
Бумага фильтровальная	ТУ 6-091678—86
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Водород газообразный	ГОСТ 3022—80
Гексан, ч	ТУ 6-09-3513—82
Гелий газообразный	ТУ 15-970—80
Гидроокись калия, хч	ГОСТ 1439—78
Гидроокись калия, 50 %-ный водный раствор	
Гидроокись натрия, хч	ГОСТ 4328—77
Гидроокись натрия, 0,1 н водный раствор	
Диэтиловый эфир, ч	ГОСТ 6262—79
Натрий серно-кислый, безводный, чда, свежепрокаленный	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, ч	ГОСТ 4233—77
Неподвижная жидкая фаза OV-3, Супелко Инк, США	
Неподвижная жидкая фаза PS-400, Alltech Associates, Inc., США	
Неподвижная жидкая фаза SE-30, Супелко Инк, США	

N-нитрозо-метилмочевина	ТУ 6-09-11-1643—82
Основные стандартные растворы клетодима клетодим сульфоксида и клетодимсульфона с концентрацией 1 мг/мл и рабочие стандартные растворы с концентрацией 1; 2; 2,5; 5; 10; 20; 50 мкг/мл в ацетонитриле	
Перекись водорода, чда	ГОСТ 10929—76
Перекись водорода, 1 %-ный водный раствор	
Раствор ацетонитрила в воде, 50 % по объему	
Раствор гексан–ацетон в соотношении 3 : 1 по объему	
Раствор диазометана в эфире	
Растворы метанол–вода в соотношении 8 : 2 и 2 : 8 по объему	
Раствор хлороформ–ацетон в соотношении 9 : 1 по объему	
Соляная кислота, хч	ГОСТ 3118—77
Спирт метиловый, хч	ГОСТ 6995—77
Супелкосил (60—100 меш.), Супелко Инк, США	
Уксусная кислота (ледяная), хч	ГОСТ 61—75
Фильтры бумажные «синяя лента»	ТУ 6-09-1678—77
Фильтры бумажные «белая лента»	ТУ 6-09-1678—77
Флоризил (100—120 меш.), Мерк, Германия	
Хлористый натрий, хч	ГОСТ 4233—77
Хлороформ, чда	ГОСТ 20015—74
Хромосорб G-AW-DMCS зернением 80—100 меш., Супелко Инк, США	
Хромосорб 750 зернением 100—120 меш., Serva, Германия	
Целит 545 (0,02—0,045 мм), Serva, Германия	
Этанол, осч	ТУ 6-09-4512—77

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Газовый хроматограф, снабженный пламенно-фотометрическим детектором

Хроматографические колонки стеклянные длиной 1 и 1,2 м с внутренним диаметром 2 мм

Хроматограф жидкостный высокого давления (серий «ЖХ», «Охта», Цвет серий 300, импортные хроматографы высокого давления фирм

Hewlett Packard, Varian и др.), снабженный УФ-детектором и двумя последовательно соединенными колонками: I – предколонка, стальная, заполнена сорбентом с привитой фазой С18, диаметром частиц 10 мкм (Партисил-10 ODS-2), длина колонки – 30 мм, внутренний диаметр – 4,6 мм II – колонка основная, заполнена сорбентом с привитой фазой С8, диаметром частиц 6 мкм (Зорбакс С8), длина колонки – 250 мм, внутренний диаметр – 4,6 мм	
Аппарат для встряхивания или аналогичный	ТУ 6-921-1084—73
Баня водяная	ТУ 64-1-2850—76
Весы аналитические ВЛА-200 или аналогичные	ГОСТ 34104—80
Весы технические ВЛКТ-500 или аналогичные	ГОСТ 24104—80
Воронки химические, конусные	ГОСТ 25336—82
Воронки делительные на 100, 250 и 500 мл	ГОСТ 8613—75
Воронки фильтрующие ВФ-2-60-ПОР 160-14/23ХС	ГОСТ 25336—82
Испаритель вакуумный ротационный ИР-1М или аналогичный	ТУ 25-11917—74
Колбы круглодонные со шлифом вместимостью 50, 100, 250 и 500 мл	ГОСТ 25336—82
Колбы плоскодонные со шлифом вместимостью 250, 500, 1 000 мл	ГОСТ 25336—82
Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 и 1 000 мл	ГОСТ 1770—74
Колонки хроматографические стеклянные, длиной 250 мм и внутренним диаметром 8 мм	
Мельница (кофемолка)	
Микропипетки	ГОСТ 20292—74
Микрошприц МШ-10, МШ-10М	ТУ 2-833-106
Насос стеклянный вакуумный водоструйный	ГОСТ 10696—75
Палочки стеклянные	ГОСТ 25336—82
Пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 мл	ГОСТ 22292—74
Стаканы химические	ГОСТ 25336—82Е

Цилиндры мерные вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1 000 мл, ГОСТ 1774—74

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», № 2051—79.

Для длительного хранения пробы замораживаются и хранятся при температуре –18 °С.

Перед анализом пробы почвы подсушивают при комнатной температуре и при отсутствии прямого солнечного света. Сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм.

Корнеплоды, клубни картофеля и лук, не размораживая, измельчают на терке, зеленую массу растений – ножницами.

Семена масличных культур доводят до стандартной влажности при комнатной температуре при отсутствии прямого солнечного света и измельчают на мельнице.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и кондиционирование колонок для газожидкостной хроматографии

Готовую насадку (2 % SE-30 на хромосорбе G-AW-DMCS или 5 % OV-3 на хромосорбе 750) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и выдерживают в потоке азота (30 мл/мин) при температуре 260 °С в течение 8 ч.

2.5.2. Подготовка и кондиционирование колонок для высокоэффективной жидкостной хроматографии

Колонку Зорбакс С8 кондиционируют в потоке подвижной фазы до стабилизации нулевой линии в течение 1—2 ч.

2.5.3. Подготовка растворителей и приготовление растворов

Растворители, используемые для анализа, специальной подготовки не требуют.

Рекомендуется проверить чистоту применяемых растворителей. При обнаружении примесей, которые могут мешать определению, растворители очищают общепринятыми методами.

Приготовление растворов для ГЖХ

Растворением 50 г КОН в 50 мл воды готовят 50 %-ный раствор гидроокиси калия.

Раствор хлороформ–ацетон в соотношении 9 : 1 – 900 мл хлороформа смешивают со 100 мл ацетона.

Разбавлением 28 мл концентрированного 25 %-ного раствора аммиака до 1 л водой готовят 0,4 н раствор аммиака.

Раствор 0,1 н гидроокиси натрия – 4 г гидроокиси натрия помещают в мерную колбу на 1 л, растворяют в 100—200 мл воды и доводят до метки водой.

Раствор ацетона в 0,4 н NH_4OH в соотношении 1 : 8 – смешивают 10 мл ацетона с 80 мл 0,4 н раствора аммиака.

Приготовление раствора диазометана в эфире. В круглодонную колбу на 100 мл помещают 15 мл 50 %-ного водного раствора едкого калия и 15 мл диэтилового эфира. Смесь охлаждают до 5 °С, затем при взбалтывании прибавляют 5 г нитрозометилмочевины. Колбу присоединяют к холодильнику, нижний конец которого снабжен аллонжем с отводом, проходящим через резиновую пробку и погруженным в слой эфира (40 мл) на дне приемника. Приемник охлаждают смесью льда и соли.

Реакционную колбу погружают в водяную баню, нагревают до 30 °С. Отгонку прекращают, как только перестают идти пузырьки газа через слой эфира в приемнике.

Приготовление растворов для ВЭЖХ

Подвижная фаза. В мерную колбу емкостью 1 000 мл сначала наливают 14 мл ледяной уксусной кислоты, затем 300 мл дистиллированной воды и доводят ацетонитрилом до метки.

Раствор метанол–вода в соотношении 2 : 8 – 800 мл дистиллированной воды смешивают с 200 мл метилового спирта.

Раствор метанол–вода в соотношении 8 : 2 – 800 мл метилового спирта смешивают с 200 мл дистиллированной воды.

Готовят 0,4 н раствор аммиака разбавлением 28 мл концентрированного (25 %) раствора аммиака до 1 л дистиллированной водой.

Раствор перекиси водорода 1 %-ный – 1 мл концентрированной перекиси водорода (пергидроля) растворяют в 29 мл дистиллированной воды.

Раствор ацетонитрила в воде 50 %-ный – 50 мл ацетонитрила смешивают с 50 мл дистиллированной воды.

Раствор гексан–ацетон в соотношении 3 : 1 – 250 мл ацетона смешивают с 750 мл гексана.

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают по 50 мг аналитических стандартов клетодима, клетодим сульфоксида и клетодим сульфона, переносят в мерные колбы объемом 50 мл и доводят до метки ацетонитрилом. Концентрация растворов 1 мг/мл (основные стандартные растворы № 1).

Методом последовательного разбавления из растворов № 1 готовят стандартные растворы клетодима и его метаболитов в ацетонитриле с концентрацией 1; 2; 2,5; 5; 10; 20; 50 мкг/мл для построения калибровочных графиков (при анализе методом ВЭЖХ) и для получения рабочих стандартных растворов продуктов реакции метилирования (при анализе методом ГЖХ).

Основные и рабочие стандартные растворы клетодима и его метаболитов устойчивы при хранении в диапазоне температур от 0 до 4 °С и отсутствии солнечного света в течение недели, при хранении при температуре от –3 до –5 °С в течение двух месяцев.

Рабочие стандартные растворы метилированных клетодима и его метаболитов. По 1 мл рабочих стандартных растворов с концентрацией 2,5; 5; 10; 20; 50 мкг/мл помещают в круглодонные колбы на 100 мл. Растворитель выпаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Колбу охлаждают до комнатной температуры, добавляют 3 мл ацетона, тщательно обмывая стенки колбы. Быстро приливают 1 мл эфирного раствора диазометана. Закрывают колбу пробкой и оставляют при комнатной температуре на 15 мин, периодически встряхивая содержимое колбы. Растворитель выпаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Остаток растворяют в 1 мл ацетона. Метилирование проводят в день проведения анализа.

2.5.5. Подготовка флоризила (супелкосила) и хроматографических колонок для очистки экстрактов

Флоризил (супелкосил) прокаливают в муфельной печи при температуре 350—400 °С в течение не менее 16 ч. Остужают в эксикаторе. Сорбент помещают в плоскодонную колбу, добавляют 3 % дистиллированной воды (по весу) и встряхивают содержимое колбы на механическом встряхивателе в течение 2 ч. Оставляют на 48 ч, периодически встряхивая содержимое колбы (2 раза в сутки по 30 мин).

Колонка № 1. В нижний конец стеклянной хроматографической колонки длиной 250 мм и внутренним диаметром 8 мм помещают тампон из стекловаты. Перекрывают кран колонки и заполняют колонку на $^1/_3$ хлороформом. Заполняют колонку сорбентом, добавляя в колонку

флоризил (супелкосил) в виде суспензии в хлороформе. Понижают уровень растворителя, приоткрывая кран колонки, и следя за тем, чтобы уровень растворителя не опустился ниже слоя сорбента. Колонку заполняют до получения слоя сорбента высотой 9 см, сверху помещают тампон из стекловаты. Понижают уровень растворителя, чтобы высота слоя растворителя над верхней границей сорбента составляла 0,5—0,7 мм. Через колонку пропускают 10 мл ацетона, а затем 15 мл хлороформа.

Колонки № 2 и 3. В нижний конец стеклянной хроматографической колонки длиной 250 мм и внутренним диаметром 8 мм помещают тампон из стекловаты. Перекрывают кран колонки и заполняют колонку на $^1/_3$ ацетонитрилом. Заполняют колонки сорбентом, добавляя в колонку флоризил (супелкосил) в виде суспензии в ацетонитриле. Понижают уровень растворителя, приоткрывая кран колонки и следя за тем, чтобы уровень растворителя не опустился ниже слоя сорбента. Колонку заполняют до получения слоя сорбента высотой 5 см (колонка № 2) и 10 см (колонка № 3), сверху помещают тампон из стекловаты. Понижают уровень растворителя, чтобы высота слоя растворителя над верхней границей сорбента составляла 0,5—0,7 мм. Через колонки пропускают 10 мл ацетонитрила.

Для каждой приготовленной партии флоризила (супелкосила) проверяют объем удерживания клетодима и его метаболитов на хроматографических колонках.

2.5.6. Подготовка фильтрующей воронки

Из фильтра «синяя лента» вырезают кружок, по диаметру точно соответствующий диаметру стеклянного пористого фильтра фильтрующей воронки. Помещают кружок на стеклянный пористый фильтр, смачивают дистиллированной водой и плотно прижимают к фильтру. В воронку помещают целит 545 слоем 1—2 см. Собирают фильтровальную установку, состоящую из круглодонной колбы, переходника и фильтрующей воронки с целитом. Подсоединяют установку к водоструйному насосу и промывают целит 50 мл дистиллированной воды или ацетонитрила, которые затем отбрасывают.

2.5.7. Построение калибровочных графиков

Рабочие стандартные растворы клетодима и его метаболитов с концентрацией 1; 2; 5; 10 мкг/мл (ВЭЖХ) или рабочие стандартные растворы метилированных клетодима и его метаболитов с концентрацией 2,5; 5; 10; 20; 50 мкг/ мл (газовая хроматография) хроматографируют, а затем на основании данных хроматографирования строят калибровоч-

ные графики, откладывая по оси ординат высоты (площади) пиков, на оси абсцисс – количество клетодима или его метаболитов.

Осуществляют не менее 5 параллельных измерений для каждой концентрации. Находят среднее значение высоты (площади) пика для каждой концентрации. Строят градуировочные графики зависимости высоты в мм (площади в мв · с) хроматографического пика от концентрации клетодима или его метаболитов в растворе (мкг/мл).

При калибровке для метода ВЭЖХ калибровочный коэффициент, представляющий собой тангенс угла наклона полученной прямой к оси абсцисс, вычисляют по методу наименьших квадратов.

При калибровке для метода газожидкостной хроматографии зависимость высоты (площади) пика от концентрации рабочих стандартных растворов линейна в логарифмической шкале координат. Зависимость имеет вид $y = x^n$, где y – высота (площадь) хроматографического пика, x – концентрация стандартного раствора, n – безразмерный параметр, принимающий значения от 1,5 до 2.

2.5.8. Подготовка приборов и средств измерения

Установка и подготовка всех приборов и средств измерения производится в соответствии с требованиями стандартов и технической документации.

2.6. Выполнение определения

2.6.1. ВЭЖХ

2.6.1.1. Вода.

I способ. В круглодонную колбу на 1 000 мл помещают 500 мл анализируемой воды и добавляют 200 мл ацетона. Раствор выпаривают на вакуумном ротационном испарителе досуха при температуре бани 60 °С. Сухой остаток растворяют в 20 мл гексана, добавляют 5 мл ацетонитрила, смесь перемешивают и переносят в делительную воронку на 100 мл. Ацетонитрильный слой сливают в круглодонную колбу, пропуская через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия. Отгонную колбу еще два раза обмывают ацетонитрилом по 5 мл. Ацетонитрил переносят в делительную воронку с гексаном и встряхивают ее в течение 2 мин. Ацетонитрильный слой присоединяют к предыдущей порции, пропуская через фильтр с сульфатом натрия. Гексан отбрасывают. Фильтр с сульфатом натрия промывают 5 мл ацетонитрила. Ацетонитрил отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе. Сухой остаток растворяют в 1 мл 50 %-ного раствора ацетонитрила или в 1 мл подвижной фазы и анализируют по п. 2.7.1.

Примечание. Далее количественное определение выполняется также по п. 2.7.1.

II способ. В плоскодонную колбу на 250 мл помещают 150 мл анализируемой воды, растворяют в ней 30 г хлористого натрия и добавляют 15 мл ацетона. Полученный раствор дважды экстрагируют хлороформом порциями по 50 мл в делительной воронке, встряхивая в течение 2 мин. Слой хлороформа пропускают через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия в круглодонную колбу емкостью 100 мл. Затем добавляют к водной фазе 1 мл концентрированной соляной кислоты. Смесь экстрагируют еще два раза по 15 мл хлороформом. Хлороформ пропускают через тот же фильтр с безводным сульфатом натрия в ту же колбу, что и экстракт из нейтральной среды. Хлороформ отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 40 °С. Остаток растворяют в 1 мл 50 %-ного раствора ацетонитрила или в 1 мл подвижной фазы и анализируют.

2.6.1.2. Почва.

I способ. В коническую колбу емкостью 500 мл помещают 25 г почвы и добавляют 100 мл раствора метиловый спирт–вода в соотношении 8 : 2. Колбу со смесью встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Содержимое колбы фильтруют в круглодонную колбу емкостью 500 мл методом декантации через фильтр «белая лента». Экстракцию повторяют при тех же условиях 100 мл раствора метиловый спирт–вода в соотношении 8 : 2 и 100 мл раствора метиловый спирт–вода в соотношении 2 : 8. Фильтр промывают 20 мл раствора метиловый спирт–вода в соотношении 8 : 2. Экстракт испаряют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 60 °С.

Сухой остаток растворяют в 50 мл гексана, затем в колбу приливают 10 мл дистиллированной воды, содержимое колбы тщательно перемешивают и переносят в делительную воронку. Водный слой собирают в круглодонную колбу емкостью 50 мл, пропуская через бумажный фильтр. Гексан сливают в отгонную колбу, добавляют 10 мл дистиллированной воды, перемешивают и переносят в делительную воронку. Водную фракцию присоединяют к первой, а гексан в делительной воронке еще раз промывают 5 мл дистиллированной воды. Водную фракцию присоединяют к предыдущей.

В гексан переходит клетодим и часть клетодим сульфоксида. В водную фракцию попадают метаболиты клетодим сульфон и клетодим сульфоксид. Гексановую фракцию пропускают через фильтр со слоем сульфата натрия. Из гексана анализируемые вещества экстрагируют трижды по 15 мл ацетонитрилом в течение 2 мин. Гексан отбрасывают.

Ацетонитрил отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Остаток растворяют в 4 мл ацетонитрила или в 4 мл подвижной фазы и анализируют.

В водную фракцию добавляют 10 мл ацетона и испаряют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 60 °С. Остаток растворяют в 20 мл гексана, добавляют 5 мл ацетонитрила, смесь перемешивают и переносят в делительную воронку. Ацетонитрил собирают в круглодонную колбу, пропуская через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия. Отгонную колбу еще два раза обмывают ацетонитрилом по 5 мл, переносят ацетонитрил в делительную воронку и встряхивают с гексаном. Ацетонитрил присоединяют к предыдущей порции. Фильтр со слоем безводного сульфата натрия промывают 5 мл ацетонитрила. Гексан отбрасывают. Ацетонитрил отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Остаток растворяют в 4 мл ацетонитрила или в 4 мл подвижной фазы и анализируют.

II способ. В коническую колбу емкостью 500 мл помещают 50 г почвы, добавляют 10 г хлористого натрия, тщательно перемешивают с почвой, затем приливают 5 мл насыщенного раствора хлористого натрия и, вращая в руках колбу, равномерно увлажняют пробу. В случае образования комков почвы в колбе, их следует размять стеклянной палочкой с утолщенным концом.

Почву экстрагируют гексаном два раза по 100 мл в течение 1 ч и один раз – 50 мл в течение 30 мин. Гексановый экстракт пропускают через бумажный фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия в круглодонную колбу емкостью 500 мл. Экстракт концентрируют до 50 мл на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 40 °С. К гексановому экстракту добавляют 15 мл ацетонитрила, смесь тщательно перемешивают и переносят в делительную воронку. Ацетонитрильный слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через фильтр «белая лента» со слоем сульфата натрия. Гексан еще дважды экстрагируют ацетонитрилом по 15 мл, всякий раз обмывая этим растворителем отгонную колбу. Фракции ацетонитрила объединяют, отгоняют на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Остаток растворяют в 4 мл подвижной фазы или в 4 мл 50 %-ного раствора ацетонитрила в воде и анализируют.

Почву после экстракции гексаном еще два раза экстрагируют хлороформом по 100 мл, встряхивая в течение 30 мин на электромеханическом встряхивателе. Хлороформ фильтруют через бумажный фильтр. Почву после экстракции переносят на фильтр и промывают хлорофор-

мом два раза по 20 мл. Фильтр с почвой отбрасывают, хлороформ отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 40 °С. Сухой остаток растворяют в 50 мл дистиллированной воды, добавляют 10 г хлористого натрия, растворяют его, приливают 5 мл ацетона и 1 мл концентрированной соляной кислоты. Полученный раствор экстрагируют три раза по 15 мл хлороформом в течение 3 мин. Хлороформ пропускают через бумажный фильтр «синяя лента» со слоем сульфата натрия в круглодонную колбу емкостью 100 мл и отгоняют на вакуумном ротационном испарителе. Сухой остаток растворяют в 20 мл гексана и добавляют 5 мл ацетонитрила, смесь тщательно перемешивают и переносят в делительную воронку. Ацетонитрил собирают в круглодонную колбу, пропуская через фильтр «синяя лента» со слоем безводного сульфата натрия. Гексан еще два раза экстрагируют по 5 мл ацетонитрила. Экстракты ацетонитрила пропускают через фильтр «синяя лента» со слоем безводного сульфата натрия. Объединенный ацетонитрильный экстракт отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Сухой остаток растворяют в 4 мл подвижной фазы или в 4 мл 50 %-ного раствора ацетонитрила в воде и анализируют.

2.6.1.3. Корнеплоды моркови и свеклы.

Навеску 50 г измельченной пробы помещают в коническую колбу емкостью 500 мл и добавляют в нее 20 г хлористого натрия. Соль тщательно перемешивают с анализируемой массой. Клетодим и его метаболиты последовательно экстрагируют гексаном на механическом встряхивателе два раза по 100 мл в течение 1 ч и один раз 50 мл в течение 30 мин. Содержимое колбы фильтруют в круглодонную колбу емкостью 500 мл методом декантации через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия. Фильтр с сульфатом натрия промывают гексаном три раза по 20 мл. Гексановый экстракт концентрируют до 50 мл на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 40 °С.

К концентрированному экстракту добавляют 10 мл 0,4 н раствора аммиака, перемешивают и переносят в делительную воронку на 100 мл. Водный слой сливают в круглодонную колбу емкостью 100 мл, пропуская через бумажный фильтр «белая лента». Гексан еще дважды промывают 0,4 н раствором аммиака по 10 мл и отбрасывают. Аммиачные экстракты объединяют и упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 60 °С. Сухой остаток растворяют в 20 мл гексана. Из гексана клетодим и метаболиты экстрагируют ацетонитрилом три раза по 5 мл, обмывая каждый раз ацетонитрилом отгонную колбу. Гексан отбрасывают. Ацетонитрил отгоняют досуха на ва-

куумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Остаток растворяют в 4 мл 50 %-ного раствора ацетонитрила в воде или в 4 мл подвижной фазы и анализируют.

Оставшуюся после экстракции гексаном пробу корнеплодов последовательно экстрагируют двумя порциями хлороформа по 100 мл в течение 1 ч. Хлороформ фильтруют через бумажный фильтр в плоскодонную колбу на 250 мл. Растительную массу переносят на фильтр и промывают два раза по 20 мл хлороформом. Весь хлороформный экстракт пропускают через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу емкостью 500 мл и концентрируют до 50 мл на вакуумном ротационном испарителе.

Хлороформ экстрагируют три раза по 10 мл 0,4 н раствором аммиака. Водный слой собирают в круглодонную колбу емкостью 100 мл, фильтруя через бумажный фильтр.

В аммиачный экстракт добавляют 10 мл ацетона и отгоняют его досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре 60 °С. Сухой остаток растворяют в 20 мл гексана и добавляют 5 мл ацетонитрила, смесь тщательно перемешивают и переносят в делительную воронку. Ацетонитрил собирают в круглодонную колбу, пропуская через фильтр «синяя лента» со слоем безводного сульфата натрия. Гексан еще два раза экстрагируют по 5 мл ацетонитрила. Экстракты ацетонитрила пропускают через фильтр «синяя лента» со слоем безводного сульфата натрия. Объединенный ацетонитрильный экстракт отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Сухой остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы или в 2 мл ацетонитрила и анализируют.

2.6.1.4. Лук-репка, клубни картофеля, бобы сои, зеленая масса растений.

Навеску 50 г (10 г бобов сои) измельченной массы помещают в коническую колбу емкостью 500 мл и добавляют в нее 20 г хлористого натрия. Соль тщательно перемешивают с анализируемой массой и оставляют на 10 мин, затем приливают 50 мл ацетона (в бобы сои ацетон не добавляют), перемешивают в течение трех минут, приливают 100 мл гексана и проводят экстракцию на механическом встряхивателе (гомогенат картофеля встряхивать менее интенсивно). Содержимое колбы фильтруют методом декантации через бумажный фильтр «белая лента» в плоскодонную колбу емкостью 500 мл. Экстракцию повторяют 150 мл раствора гексан–ацетон в соотношении 3 : 1. Содержимое колбы переносят на фильтр и промывают 50 мл раствора гексан–ацетон. Фильтрат переливают в делительную воронку, после разделения слоев нижнюю

фракцию сливают в колбу емкостью 250 мл. Верхнюю фракцию пропускают через слой безводного сульфата натрия в круглодонную колбу емкостью 500 мл. Нижнюю фракцию промывают 20 мл гексана, переносят в делительную воронку. Водную фазу отбрасывают, а гексановую присоединяют к экстракту, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Экстракт концентрируют до объема 50 мл на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С.

При анализе клубней картофеля и бобов сои из концентрированного экстракта анализируемые вещества экстрагируют три раза по 15 мл ацетонитрилом. Ацетонитрил отгоняют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Остаток растворяют в 50 мл гексана, из которого клетодим и его метаболиты экстрагируют два раза по 20 мл и один раз 10 мл 0,4 н раствором аммиака.

При анализе лука и зеленых листьев из концентрированного экстракта анализируемые вещества экстрагируют два раза по 20 мл и один раз 10 мл 0,4 н раствором аммиака, не проводя переэкстракцию ацетонитрилом.

Аммиачный экстракт промывают 20 мл гексана. Гексан отбрасывают. К экстракту добавляют 2 мл концентрированной соляной кислоты, 8 г хлористого натрия. Раствор экстрагируют гексаном три раза по 20 мл. Гексановую фракцию пропускают через фильтр «синяя лента» со слоем безводного сульфата натрия, водную отбрасывают. Из гексана клетодим и метаболиты экстрагируют ацетонитрилом три раза по 15 мл. Ацетонитрил испаряют досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани 50 °С. Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и добавляют 0,2 мл 1 %-ного раствора перекиси водорода, смесь выдерживают при комнатной температуре (18—25 °С) в течение 15 мин, содержимое колбы отгоняют досуха при температуре бани 60 °С. Сухой остаток растворяют в 4 мл (при анализе бобов сои в 2 мл) 50 %-ного раствора ацетонитрила в воде или в 4 мл подвижной фазы и анализируют.

2.6.2. Газожидкостная хроматография.
Семена масличных культур и растительное масло

2.6.2.1. Экстракция.

Семена. Навеску измельченных семян 25—50 г помещают в плоскодонную колбу на 500 мл, приливают 100 мл хлороформа и встряхивают 30 мин на электромеханическом встряхивателе. Жидкую фазу отделяют декантацией, фильтруя в круглодонную колбу на 500 мл через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия высотой 2—3 см и хранят в холодильнике при температуре от 0 до 4 °С до упарива-

ния. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 100 мл хлороформа каждый раз. Пробу промывают трижды порциями хлороформа по 15 мл. Объединенный экстракт выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С.

Растительное масло. Навеску масла 25—50 г помещают в делительную воронку на 500 мл, приливают 100 мл ацетонитрила и энергично встряхивают в течение 3 мин. После разделения фаз масло сливают в химический стакан. Ацетонитрильный экстракт фильтруют под вакуумом, используя водоструйный насос, в круглодонную колбу на 100 мл через фильтрующую воронку со стеклянной пористой пластинкой (ПОР 160), на которую помещен кружок из фильтра «синяя лента» и слой целита 545 толщиной 2 см, предварительно промытый ацетонитрилом (см. п. 2.5.6). Если в процессе фильтрации в слое целита образуется воронка, перед следующей фильтрацией слой выравнивают, добавляя небольшое количество целита. Масло снова помещают в делительную воронку. Экстракцию повторяют еще 5 раз порциями ацетонитрила по 100 мл. Ацетонитрил выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 2.6.2.2.

2.6.2.2. Очистка экстракта перераспределением между двумя несмешивающимися жидкостями.

Остаток в колбе растворяют в 3 мл (при анализе семян) или 5 мл (при анализе масла) ацетона, тщательно обмывая стенки колбы. Добавляют 40 мл 0,4 н раствора аммиака, энергично перемешивают в течение 2 мин и оставляют на 3 мин. Смесь фильтруют в круглодонную колбу на 250 мл под вакуумом через фильтрующую воронку с пористой стеклянной пластинкой (ПОР 160), на которую помещен бумажный кружок из фильтра «синяя лента» и слой целита 545 толщиной 1 см, предварительно промытый водой (см. п. 2.5.6). Слой целита трижды промывают порциями по 5 мл смеси ацетона и 0,4 н раствора аммиака в соотношении 1 : 8 по объему. В фильтрате растворяют 10 г хлористого натрия, добавляют 2 мл концентрированной соляной кислоты, перемешивают содержимое колбы и помещают в делительную воронку на 250 мл. Экстрагируют клетодим и его метаболиты 50 мл хлороформа, встряхивая 2 мин. После разделения слоев нижнюю хлороформную фракцию фильтруют через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия толщиной 2 см в круглодонную колбу на 250 мл. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 мл хлороформа каждый раз. Объединенный экстракт выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 45 °С. Колбу охлаждают до комнатной

температуры, остаток растворяют в 3 мл ацетона, тщательно обмывая стенки колбы. Проводят метилирование экстракта по п. 2.6.2.3.

2.6.2.3. Метилирование.

К ацетоновому раствору прибавляют 1 мл эфирного раствора диазометана, закрывают колбу пробкой и оставляют при комнатной температуре на 15 мин, периодически встряхивая колбу. Реакционную смесь выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Остаток в колбе растворяют в 25 мл хлороформа. Полученный раствор переносят в делительную воронку на 100 мл. Стенки колбы обмывают тремя порциями хлороформа по 5 мл, которые присоединяют к основному раствору. Раствор промывают сначала 10 мл 0,1 н раствора NaOH, встряхивая делительную воронку в течение 1 мин. После разделения слоев хлороформный раствор сливают в ту же колбу, а затем вновь помещают в делительную воронку, водную фракцию отбрасывают. Операцию повторяют с 10 мл дистиллированной воды. Хлороформный раствор фильтруют в круглодонную колбу на 100 мл через фильтр «белая лента» со слоем безводного сульфата натрия высотой 2 см. Водный слой отбрасывают. Хлороформ упаривают до объема 1—2 мл на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 45 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по п. 2.6.2.4.

2.6.2.4. Очистка экстракта на колонках с флоризилом (супелкосилом).

Перед внесением пробы уровень растворителя в колонке понижают почти до верхнего края сорбента. При помощи стеклянной или автоматической пипетки концентрированный раствор вносят в хроматографическую колонку № 1, дают пробе впитаться. Стенки колбы трижды обмывают порциями хлороформа по 1 мл, которые также вносят в колонку. Пропускают через колонку 5 мл хлороформа, элюат отбрасывают. Элюируют метилированный клетодим 10 мл смеси хлороформа с ацетоном в соотношении 9 : 1 по объему (фракция 1). Затем элюируют метилированные метаболиты клетодима 15 мл ацетона (фракция 2) со скоростью 2 мл/мин. Фракции собирают отдельно в круглодонные колбы на 100 мл. Растворители выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С.

Остаток после упаривания фракции 1 растворяют в 3 мл ацетонитрила. При помощи пипетки полученный раствор вносят в хроматографическую колонку № 2 (при анализе семян) или № 3 (при анализе масла). Стенки колбы обмывают дважды ацетонитрилом порциями по 1 мл, которые также вносят в колонку, дают пробе впитаться. Элюируют пробу через колонку со скоростью 2 мл/мин 15 мл ацетонитрила (колонка

№ 2) или 25 мл ацетонитрила (колонка № 3). Весь элюат собирают в круглодонную колбу на 100 мл. Ацетонитрил выпаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре бани не выше 45 °С. Сухой остаток растворяют в 1—2 мл ацетона и 1—5 мкл полученного раствора вводят в хроматограф и анализируют.

Сухой остаток в колбе после упаривания фракции 2 растворяют в 1—2 мл ацетона и 1—5 мкл полученного раствора вводят в хроматограф для определения содержания клетодим сульфоксида и клетодим сульфона.

2.7. Условия хроматографирования

2.7.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Жидкостный хроматограф высокого давления с ультрафиолетовым детектором, длина волны – 254 нм, оборудован двумя последовательно соединенными колонками:

I – предколонка, стальная, заполнена сорбентом с привитой фазой С18 с диаметром частиц 10 мкм (Партисил-10 ODS-2), длина колонки – 30 мм, внутренний диаметр – 4,6 мм;

II – колонка основная, заполнена сорбентом с привитой фазой С8 с диаметром частиц 6 мкм (Зорбакс С8), длина колонки – 250 мм, внутренний диаметр – 4,6 мм.

Число теоретических тарелок – не менее 10 000.

Линейный динамический диапазон детектирования – 0,004—4 мкг.

В качестве подвижной фазы при хроматографировании клетодима и его метаболитов используют элюент, состоящий из 68,6 % ацетонитрила, 1,4 % ледяной уксусной кислоты и 30 % дистиллированной воды, который пропускают через колонки со скоростью 0,8 $см^3$/мин при температуре 20 °С.

Температура термостата колонки 20—30 °С.

Время удерживания клетодима (18,1 ± 0,5) мин.

Время удерживания клетодим сульфоксида (12,0 ± 0,2) мин.

Время удерживания клетодим сульфона (10,6 ± 0,2) мин.

В качестве альтернативной колонки можно использовать колонку, заполненную сорбентом с привитой фазой С18 с диаметром частиц 10 мкм (Хайперсил-10 ODS), длина колонки – 250 мм, внутренний диаметр – 4,6 мм.

Время удерживания клетодима – (21,0 ± 0,5) мин.

Время удерживания клетодим сульфоксида – (11,3 ± 0,2) мин.

Время удерживания клетодим сульфона – (6,8 ± 0,2) мин.

Использование других марок неподвижной фазы типа С8, а также фаз типа С18, дает качественно аналогичные результаты хроматографирования.

Вводимый в хроматограф объем пробы – 0,02—0,1 мл (20—100 мкл).

Скорость движения ленты самописца (интегратора) 0,1—0,2 см/мин.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту (площадь) пиков.

Растворы для хроматографирования не хранятся.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы клетодима и его метаболитов с концентрациями 10 мкг/мл, разбавляют.

2.7.2. Газожидкостная хроматография

Газовый хроматограф, снабженный пламенно-фотометрическим детектором.

Основной вариант.

Носитель – хромосорб G-AW-DMCS (80—100 меш.).

Неподвижная фаза – 2 % SE-30.

Колонка стеклянная, длиной 1 м и внутренним диаметром 2 мм.

Газ-носитель – азот высокой чистоты.

Скорость потока:

азота – 50 $см^3$/мин при определении метилированных клетодима и клетодим сульфона и 30 $см^3$/мин при определении метилированного клетодим сульфоксида;

водорода – 70 $см^3$/мин;

воздуха – 50 $см^3$/мин.

Условия хроматографирования при определении клетодима.

Температура:

начальная термостата колонок 200 °С в течение 2 мин;

скорость подъема температуры 4 °С/мин;

конечная термостата колонок 220 °С;

термостата испарителя 250 °С,

термостата детектора 250 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодима (5,0 ± 0,3) мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфоксида.

Температура:

начальная термостата колонок 90 °С в течение 1 мин;

скорость подъема температуры 12 °С/мин;

конечная термостата колонок 180 °С;

термостата испарителя 200 °С;

термостата детектора 200 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфоксида (7,3 ± 0,3) мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфона.

Температура:

начальная термостата колонок 210 °С в течение 2 мин;

скорость подъема температуры 8 °С/мин;

конечная термостата колонок 240 °С;

термостата испарителя 250 °С;

термостата детектора 250 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфона (6,7 ± 0,3) мин.

Альтернативный вариант.

Носитель – хромосорб 750 (100—120 меш.).

Неподвижная фаза – 5 % OV-3.

Колонка стеклянная, длиной 1,2 м и внутренним диаметром 2 мм.

Скорость потока:

азота – 50 $см^3$/мин при определении метилированного клетодима и 30 $см^3$/мин при определении метилированного клетодим сульфоксида и клетодим сульфона;

водорода – 70 $см^3$/мин;

воздуха – 50 $см^3$/мин.

Условия хроматографирования при определении клетодима.

Температура:

термостата колонок 220 °С;

термостата испарителя 250 °С;

термостата детектора 250 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодима (6,5 ± 0,3) мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфоксида.

Температура:

начальная термостата колонок 90 °С в течение 2 мин;

скорость подъема температуры 16 °С/мин;

конечная термостата колонок 150 °С;

термостата испарителя 200 °С;

термостата детектора 200 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфоксида (5,3 ± 0,3) мин.

Условия хроматографирования при определении клетодим сульфона.

Температура:
начальная термостата колонок 230 °С в течение 2 мин;
скорость подъема температуры 12 °С/мин;
конечная термостата колонок 260 °С;
термостата испарителя 250 °С;
термостата детектора 300 °С.

При этих условиях хроматографирования время удерживания метилированного клетодим сульфона (6,2 ± 0,3) мин.

Скорость движения ленты самописца – 0,2 см/мин.

Вводимый в хроматограф объем пробы – 1—5 мкл.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту (площадь) пика.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы клетодима и его метаболитов с концентрациями 40 мкг/мл, разбавляют.

2.8. Обработка результатов анализа

Содержание клетодима в пробах ($X_{кл}$) вычисляют как сумму концентраций клетодима и его метаболитов в пересчете на исходное действующее вещество:

$$X_{кл} = C_{кл} + C_{ксо} \cdot 0{,}96 + C_{ксф} \cdot 1{,}01, \text{ где}$$

$C_{кл}$ – содержание клетодима в пробе, мг/л (мг/кг);

$C_{ксо}$ – содержание клетодим сульфоксида в пробе, мг/л (мг/кг);

$C_{ксф}$ – содержание клетодим сульфона в пробе, мг/л (мг/кг).

2.8.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Содержание клетодима и его метаболитов для каждого в отдельности рассчитывают по формуле:

$$C_i = \frac{C_{is} \cdot V_{is} \cdot V_1}{V_2 \cdot V_3} \cdot \frac{S_i}{S_{is}}, \text{ где}$$

C_i – концентрация i-го вещества в пробе, мг/л (мг/кг);

C_{is} – концентрация i-го стандартного раствора, мкг/мл;

V_{is} – объем i-го стандартного раствора, вводимого в хроматограф, мкл;

V_1 – объем анализируемой пробы, мл;

V_2 – объем раствора анализируемой пробы, вводимого в хроматограф, мкл;

V_3 – масса или объем анализируемой пробы, мл (г);

S_i – площадь (высота) пика анализируемого метаболита, мв · с, (мм);

S_{is} – площадь (высота) пика i-го стандартного раствора, мв · с, (мм).

2.8.2. Газожидкостная хроматография

Содержание клетодима и его метаболитов для каждого в отдельности рассчитывают по формуле:

$$C_i = (C_{is} \cdot V_{is})^{\frac{\lg S_i}{\lg S_{is}}} \cdot \frac{V_1}{V_2 \cdot V_3}, \text{ где}$$

C_i – концентрация *i*-го вещества в пробе, мг/л (мг/кг);

C_{is} – концентрация *i*-го стандартного раствора, мкг/мл;

V_{is} – объем *i*-го стандартного раствора, вводимого в хроматограф, мкл;

V_1 – объем анализируемой пробы, мл;

V_2 – объем раствора анализируемой пробы, вводимого в хроматограф, мкл;

V_3 – масса или объем анализируемой пробы, мл (г);

S_i – площадь (высота) пика анализируемого метаболита, мв · с, (мм);

S_{is} – площадь (высота) пика *i*-го стандартного раствора, мв · с, (мм).

3. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать все требования безопасности в соответствии с «Правилами устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лечебных и санитарно-эпидемиологических учреждениях системы МЗ СССР» (№ 2455—81 от 20.10.81), а также требования, изложенные в документации на приборы.

4. 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».

5. Разработчики

Григорьева Л. В., Сабуров Г. Г., Максимова Л. И., Бороздина Л. К., Сафин Р. А. (Высокоэффективная жидкостная хроматография), 1994.

Басова Ю. Г., Сабуров Г. Г., Маслаков С. Е. (Газожидкостная хроматография). 1999.

Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства. 194021, Санкт-Петербург, Институтский пр., 21. Телефон: (812) 552-56-56.

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

Сборник методических указаний

Выпуск 2

Часть 2

МУК 4.1.1217—4.1.1220—03

Редакторы Акопова Н. Е., Кожока Н. В., Кучурова Л. С.
Верстка Смирнов В. В.

Подписано в печать 23.05.05

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,25
Тираж 3000 экз. Заказ 13

Федеральная служба по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован Издательским отделом
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
113105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru