4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний

Выпуск 3
Часть 2
МУК 4.1.1391—4.1.1394—03

gost.e-ecolog.ru

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 госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.— Вып. 3.—Ч. 2—60 с.

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 24 июня 2003 г.

4. Введены впервые.

5. Введены с 30 июня 2003 г.

ББК 51.23+51.21

Редакторы Кожока Н. В., Максакова Е. И.
Технический редактор Климова Г. И.

Подписано в печать 15.10.04

Формат 60x88/16 Печ. л. 3,75
Тираж 3000 экз. Заказ 74

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 госсанэпиднадзора Минздрава России
113105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел. 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2004
© Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004

Содержание

Определение остаточных количеств Карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, капусте, семенах и масле рапса (горчицы) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1391—03 4

Определение остаточных количеств Карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, семенах и масле рапса (горчицы) методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1392—03 24

Определение остаточных количеств Мезотриона в воде, почве, зеленой массе и зерне кукурузы методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1393—03 42

Определение массовой концентрации Мезотриона в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1394—04 56

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 июня 2003 г.
Дата введения: 30 июня 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств Карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, семенах и масле рапса (горчицы) методом газожидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1392—03

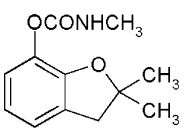
1. Вводная часть

Фирма-производитель: ФМСРус.

Торговое название препарата: Фурадан, ТПС, 350 г/л.

Название действующего вещества по ИСО: Карбофуран.

Название действующего вещества по ИЮПАК: О-(2,3-дигидро-2,2-диметил-бензофуран-7-ил)метилкарбамат. Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{15}NO_3$ М. м. 221,26

Химически чистый Карбофуран представляет собой белое кристаллическое вещество с температурой плавления 153—154 °С.

Коэффициент распределения в системе н-октанол – вода K_{ow} logP= 1,52 (при 20 °С).

Растворимость в воде 320 мг/л (при 20 °С). Растворимость (при 25 °С в г/кг): в ацетоне 150, ацетонитриле 140, бензоле 40, диметилсульфоксиде 270, циклогексаноне 90. Растворимость в дихлорметане > 200 г/л (при 20 °С).

При комнатной температуре нестабилен в щелочных растворах, стабилен в нейтральных и кислых. DT_{50} (при 20 °С) составляет >>1 месяца (pH 4), 121 день (pH 7), 31 ч (pH 9). При нагревании со щелочами и кислотами быстро разлагается, в спиртовых растворах щелочей разлагается при комнатной температуре.

Давление паров: 0,031 mPa (20 °С); 0,072 mPa (25 °С).

Краткая токсикологическая характеристика. Карбофуран относится к чрезвычайно опасным веществам по острой пероральной ($ЛД_{50}$ для крыс – 8,0 мг/кг, для мышей – 14,4 мг/кг, собак – 15,0 мг/кг) и ингаляционной токсичности [$ЛК_{50}$ (4 ч) для крыс – 0,075 мг/л воздуха (аэрозоль)]. Малоопасен при нанесении на кожу ($ЛД_{50}$ для крыс > 3000 мг/кг), но вызывает раздражение кожи и слизистых оболочек глаз. Токсичен для пчел и других полезных насекомых.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ДСД – 0,002 мг/кг/сутки; ПДК в почве – 0,01 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,02 мг/дм^3; МДУ в семенах и масле горчицы и рапса – 0,05 мг/кг, ВМДУ в сухом хмеле – 5,0 мг/кг. Остаточные количества Карбофурана в сахарной свекле и винограде не допускаются.

Область применения препарата. Карбофуран – инсектицид и нематицид системного, контактного и кишечного действия из группы эфиров карбаминовой кислоты – ингибиторов ацетилхолинэстеразы. Он эффективно подавляет развитие вредителей из отрядов жесткокрылых, перепончатокрылых, прямокрылых, двукрылых, чешуекрылых (имаго и личинки). Карбофуран, внесенный в почву или нанесенный на семена, может предохранять всходы растений от повреждения блошками, жуками-долгоносиками, проволочниками и нематодами.

Зарегистрирован в России для обработки семян под торговым названием: Фурадан, текучая паста (350 г/л), в качестве инсектицида для подавления численности крестоцветных блошек на рапсе, горчице при норме расхода 12—15 л/т семян, а также борьбы с комплексом почвообитающих и наземных вредителей сахарной и кормовой свеклы при норме расхода 25—35 л/т семян.

2. Методика определения остаточных количеств Карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, семенах и масле рапса (горчицы) газохроматографическим методом

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Карбофурана методом газожидкостной хроматографии с использованием термоионного детектора, после его экстракции из анализируемой пробы органическим растворителем, очистки экстракта методом перераспределения между двумя жидкими несмешивающимися фазами и, при необходимости, на концентрирующем патроне Диапак.

Идентификация вещества проводиться по времени удерживания. Количественное определение Карбофурана осуществляется методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода ГЖХ

Анализируемый объект	Метрологические параметры, p = 0,95, n = 20				
	предел обнаружения Карбофурана, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S	доверительный интервал среднего результата, %, ±
вода	0,0025	0,025—0,0025	89,15	5,489	89,15 ± 2,569
почва	0,005	0,005—0,050	74,40	0,0243	74,40 ± 1,14
корнеплоды сахарной свеклы	0,05	0,05—0,50	85,69	4,026	85,69 ± 1,884
зеленая масса сахарной свеклы	0,05	0,05—0,50	83,81	3,639	83,81 ± 1,703
семена рапса (горчицы)	0,05	0,05—0,50	82,86	4,831	82,86 ± 2,261
масло рапса (горчицы)	0,05	0,05—0,50	83,42	4,117	83,42 ± 1,927

Таблица 2

Доверительный интервал и полнота определения Карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, семенах и масле рапса (горчицы)

Анализируемый объект	Добавлено Карбофурана, мг/кг (мг/л)	Обнаружено Карбофурана, мг/кг (мг/л)	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
1	2	3	4	5
вода	0,0025	0,0023	0,0001	92,8
	0,0050	0,0045	0,0004	90,0
	0,0100	0,0084	0,0003	84,2
	0,0250	0,0224	0,0014	89,6
почва	0,005	0,0036	0,0001	72,62
	0,010	0,0074	0,0002	73,60
	0,020	0,0152	0,0004	76,02
	0,050	0,0377	0,0023	75,36
корнеплоды сахарной свеклы	0,05	0,044	0,0020	88,4
	0,10	0,085	0,0052	84,6
	0,20	0,176	0,0085	87,8
	0,50	0,410	0,0107	82,0
зеленая масса сахарной свеклы	0,05	0,042	0,0034	85,6
	0,10	0,086	0,0023	85,4
	0,20	0,163	0,0053	81,5
	0,50	0,405	0,0176	81,0
семена рапса (горчицы)	0,05	0,041	0,0020	81,6
	0,10	0,085	0,0040	85,2
	0,25	0,196	0,0036	78,6
	0,50	0,399	0,0032	80,0
масло рапса (горчицы)	0,05	0,042	0,0035	84,4
	0,10	0,084	0,0025	83,6
	0,20	0,198	0,0048	79,3
	0,50	0,428	0,0036	85,7

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, близких по химическому строению (карбаматы), а также и дру-

гих, применяемых при возделывании сельскохозяйственных культур, на которых применяется Карбофуран.

2.2. Реактивы, растворы, оборудование и приборы

2.2.1. Реактивы, растворы и материалы

Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил, хч, или для ВЭЖХ «В-230НМ»	ТУ 6-09-3534—74
н-Гексан, х.ч.	ТУ 6-09-3375—78
Калия гидроксид (кали едкое), хч	ОСТ 6-01-301—74
Карбофуран, аналитический стандарт с содержанием д.в. не менее 97,0 %	
Кислота фосфорно-вольфрамовая	ГОСТ 18290—72
Кислота фосфорно-вольфрамовая, 40 %-ный раствор в деионизированной бидистиллированной воде	
Кислота хлороводородная (соляная), концентрированная, хч	ГОСТ 3118—77
Кислота хлороводородная, 0,05 н и 0,1 н растворы в деионизированной бидистиллированной воде	
Метилен хлористый (дихлорметан)	ГОСТ 12794—80
Натрия нитрит, хч	ТУ-38-10274—79
Натрия сульфат (натрий серно-кислый) безводный, чда	ГОСТ 4166—76
Натрия хлорид	ГОСТ 4233—77
Патроны концентрирующие Диапак-Нитрил (0,6 г)	ТУ 4215-002-05451931—94
Фильтры бумажные	ТУ 6-09-1678—77
Хлороформ, хч	ГОСТ 20015—74

2.2.2. Приборы, оборудование и посуда

Хроматограф «Кристалл 2000М» с термоионным детектором
Колонка хроматографическая капиллярная кварцевая SE-30, 25 м (ООО «Предприятие Химресурс XXI»)
Аллонж прямой с отводом для вакуума (для работы с концентрирующими патронами)

Баня водяная	ТУ 64-1-2850—76
Ванна ультразвуковая «Серьга» или аналогичная	ТУ 3.836.008
Весы аналитические ВЛА-200, или аналогичные	ГОСТ 34104—80 Е
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 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—82Е
Встряхиватель механический, или аналогичный	ТУ 64-673М
Испаритель ротационный вакуумный ИР-1М, или аналогичный	ТУ 25-11-917—76
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, или аналогичная	ТУ 46-22-236—84
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. 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).

Отобранные пробы воды, почвы, сахарной свеклы, семян и масла рапса (горчицы) анализируются в день отбора или могут храниться в холодильнике при 4 °С в течение 3 дней.

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. Пробы сахарной свеклы замораживают и хранят при температуре – 18 °С. Непосредственно перед определением пробы корнеплодов сахарной свеклы измельчают на терке. Пробы зеленой массы сахарной свеклы измельчают ножницами. Пробы семян рапса (горчицы) подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света до стандартной влажности и хранят в воздушно-сухом состоянии в бумажной или тканевой упаковке. Перед анализом пробы семян рапса измельчают на лабораторной мельнице. Пробы масла рапса (горчицы) хранят в плотно закрытой таре в холодильнике при температуре 0—5 °С.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление стандартных растворов

2.4.1.1. Приготовление стандартных растворов Карбофурана в ацетоне.

Навеску 50 мг Карбофурана растворяют в 50 мл ацетона (стандартный раствор № 1). Переносят 1 мл стандартного раствора № 1 в мерную колбу на 100 мл и ацетоном доводят до метки (стандартный раствор № 2). Стандартные растворы хранят в мерных колбах с притертыми пробками в холодильнике.

Стандартные растворы в ацетоне используют при определении Карбофурана методом газожидкостной хроматографии для построения градуировочного графика и внесения в воду, почву, корнеплоды и зеленую массу сахарной свеклы, семена рапса при отработке и апробации методики.

2.4.1.2. Приготовление стандартных растворов Карбофурана в гексане.

Взвешивают 50 мг Карбофурана в мерной колбе на 100 мл, интенсивно встряхивая, растворяют навеску в гексане и доводят объем до метки гексаном (стандартный раствор № 3 с концентрацией 500 мкг/мл). Для лучшего растворения Карбофурана в гексане мерную колбу можно на 1 мин поместить в ультразвуковую ванну.

Стандартный раствор № 3 хранят в мерной колбе с притертыми пробками в холодильнике.

Методом последовательного разбавления готовят стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/мл, который также хранят в холодильнике в течение 30 дней в плотно закрытой посуде (стандартный раствор в гексане № 4).

Стандартные растворы Карбофурана в гексане используют для внесения в масло рапса (горчицы) при отработке и апробации методики.

2.4.2. Подготовка и кондиционирование колонки для газожидкостной хроматографии

Капиллярную кварцевую колонку SE-30, длиной 25 м устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 270 °С, давлении 83 кПа, расходе газа носителя (Газ 2, гелий) 0,5 мл/мин, сбросе 1 : 40 и поддуве (Газ 3, азот) 30 мл/мин в течение 6 ч.

2.4.3. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация Карбофурана в растворе) методом последовательного разбавления ацетоном из стандартного раствора № 2 готовят градуировочные растворы с концентрациями 0,50; 1,00; 2,50; 5,00 мкг/мл. Вводят в хроматограф по 1 мкл полученных растворов.

Измеряют площадь пиков (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации) и строят график зависимости площади хроматографического пика от концентрации Карбофурана.

2.4.4. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-Нитрил

2.4.4.1. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-Нитрил для очистки экстракта.

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 мл/мин.

Патрон Диапак-Нитрил 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).

Концентрирующий патрон промывают 10 мл смеси гексан-ацетон в соотношении 1 : 4. Элюат отбрасывают. В течение 4 мин сушат патрон, продувая через него воздух. Затем патрон промывают 20 мл гексана. Элюат отбрасывают. После промывки патрона гексаном нельзя допускать высыхания его поверхности!

2.4.4.2. Проверка хроматографического поведения Карбофурана на концентрирующем патроне Диапак-Нитрил.

При отработке методики или поступлении новой партии концентрирующих патронов проводят изучение поведения Карбофурана на

патроне. Для этого на патрон, подготовленный, как указано в разделе 2.4.4.1, вносят 4 мл стандартного раствора Карбофурана с концентрацией 1,0 мкг/мл в гексане. Затем патрон промывают 10 мл гексана, отбирая последовательно по 5 мл элюата. Каждую фракцию объемом 5 мл собирают отдельно и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 35 °С. Карбофуран смывают с патрона 10 мл смеси гексан-ацетон 1 : 4, последовательно отбирая по 5 мл элюата. Каждую фракцию объемом 5 мл собирают отдельно, упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 35 °С. Сухие остатки растворяют в 2 мл ацетона, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и вводят в хроматограф по 1 мкл раствора.

По результатам обнаружения Карбофурана в каждой фракции определяют объем смеси гексан-ацетон, необходимый для полного вымывания Карбофурана из патрона. Фракции, содержащие Карбофуран, объединяют, хроматографируют и определяют полноту смыва вещества с патрона.

2.5. Описание определения

2.5.1. Вода

Пробу воды объемом 200 мл фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в делительную воронку емкостью 500 мл.

Экстрагируют Карбофуран из воды 50 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После разделения слоев нижний слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Экстракцию повторяют еще 3 раза, используя каждый раз по 50 мл хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 35 °С. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 мин. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетона и вводят в хроматограф 1 мкл пробы.

В случае недостаточной чистоты анализируемых проб воды можно использовать процедуру очистки на концентрирующем патроне Диапак-Нитрил, как описано в п. 2.5.2.2.

2.5.2. Почва

2.5.2.1. Экстракция и предварительная очистка.

Навеску 100 г воздушно-сухой почвы помещают в коническую колбу на 500 мл. Прибавляют 20 мл 0,05 н раствора хлороводородной (соляной) кислоты в деионизированной бидистиллированной воде. Встряхивают коническую колбу в течение минуты для равномерного смачивания навески почвы.

Карбофуран экстрагируют 100 мл смеси ацетонитрил : 0,05 н раствор соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде 9 : 1, в течение 30 мин на механическом встряхивателе. Содержимое колбы переносят в центрифужный стакан и центрифугируют 10 мин при 2 000 об/мин. Супернатант фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в делительную воронку емкостью 500 мл, в которую предварительно добавлено 3 г хлорида натрия. Осадок из центрифужного стакана переносят обратно в коническую колбу. Экстрагируют Карбофуран из почвы еще 2 раза, используя каждый раз по 50 мл смеси ацетонитрил : 0,05 н соляная кислота и встряхивая содержимое конической колбы в течение 15 мин. После каждой экстракции содержимое колбы центрифугируют, супернатант фильтруют в делительную воронку. После завершающей экстракции осадок почвы отбрасывают.

Делительную воронку с объединенным экстрактом интенсивно встряхивают в течение 2 мин. Затем оставляют в покое до разделения слоев. После разделения слоев нижний водный слой отбрасывают. Верхний ацетонитрильный слой оставляют в делительной воронке.

К объединенному экстракту в делительной воронке прибавляют 40 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Оставляют в покое до полного разделения слоев. Возможно, в делительной воронке будет наблюдаться три слоя жидкости. Нижний слой – вода, не полностью отделившаяся от ацетонитрила при предшествующем встряхивании с хлоридом натрия. Нижний водный слой отбрасывают. Средний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт из химического стакана снова переносят в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки ацетонитрильного экстракта гексаном еще 2 раза, используя по 30 мл гексана. После завершающей промывки нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через слой безводного сульфата натрия.

Ацетонитрил упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. Добавляют в концентратор 20 мл гексана. Тщательно обмывают стенки концентратора, помещают концентратор на 20 с в ультразвуковую ванну, тщательно перемешива-

ют. Содержимое концентратора переносят в чистую делительную воронку на 250 мл. В концентратор добавляют еще 20 мл гексана, помещают в ультразвуковую ванну на 20 с, тщательно обмывают стенки. Гексан из концентратора переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям гексана добавляют 50 мл 0,1 н раствора соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде. Аккуратно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250—500 мл. Верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции Карбофурана из гексана 0,1 н раствором соляной кислоты 3 раза, используя по 50 мл раствора. Нижние водные слои фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 250—500 мл.

Переносят экстракт в делительную воронку на 500 мл, добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После разделения слоев нижний метиленхлоридный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через слой безводного сульфата натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции хлористым метиленом еще 3 раза, используя по 50 мл эктсркагента. Нижние метиленхлоридные слои каждый раз пропускают через слой безводного сульфата натрия и объединяют в концентраторе на 250 мл.

Хлористый метилен упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 мин.

2.5.2.2. Очистка экстракта на концентрирующем патроне Диапак-Нитрил.

Сухой остаток в концентраторе растворяют в 4 мл гексана, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Полученный раствор вносят на патрон, подготовленный, как указано в п. 2.4.6.1. Концентратор тщательно обмывают 10 мл гексана и также вносят на патрон. Элюат отбрасывают. Карбофуран элюируют 10 мл смеси гексан-ацетон 1 : 4, элюат собирают в концентратор, упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетона и аликвоту 1 мкл вводят в хроматограф.

2.5.3. Корнеплоды сахарной свеклы

Образец корнеплодов сахарной свеклы массой 20 г, измельченный на терке, помещают в коническую колбу объемом 250 мл. Прибавляют 40 мл ацетонитрила и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну, затем встряхивают смесь на механическом встряхивателе 15 мин. Процедуру экстракции повторяют еще 2 раза, используя по 40 мл ацетонитрила. Экстракты фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в делительную воронку на 250 мл.

К объединенному экстракту в делительной воронке добавляют 3 г хлорида натрия и интенсивно встряхивают в течение 30 с. После разделения слоев нижний водный слой с остатками нерастворившегося хлорида натрия отбрасывают.

К оставшемуся в делительной воронке ацетонитрильному слою прибавляют 30 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт из химического стакана снова переносят в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки экстракта гексаном еще 2 раза, используя по 30 мл гексана. После завершающей промывки нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через слой безводного сульфата натрия.

Экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. В концентратор добавляют 2 мл ацетона, тщательно растворяют сухой остаток. Концентратор помещают на 30 с в ультразвуковую ванну. Затем в концентратор добавляют 20 мл гексана, тщательно перемешивают и обмывают стенки. Содержимое концентратора переносят в делительную воронку на 250 мл. Концентратор обмывают дополнительно 20 мл гексана. Гексан переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям гексана добавляют 50 мл 0,1 н раствора соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде. Осторожно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения слоев водный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250—500 мл. Верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции Карбофурана из гексана 0,1 н раствором соляной кислоты еще 3 раза, используя по 50 мл раствора. Нижние водные слои фильтруют через

бумажный фильтр в коническую колбу на 250—500 мл. После завершающей экстракции гексановый слой отбрасывают.

Переносят водный слой из конической колбы в делительную воронку на 500 мл и добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Нижний метиленхлоридный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через безводный сульфат натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции карбофурана еще 3 раза, используя по 50 мл хлористого метилена. Нижний метиленхлоридный слой после каждой экстракции пропускают через слой безводного сульфата натрия и объединяют в концентраторе на 250 мл.

Хлористый метилен упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 мин.

Далее проводят процедуру очистки на концентрирующем патроне Диапак-Нитрил, как описано в п. 2.5.2.2.

2.5.4. Зеленая масса сахарной свеклы

Измельченный образец 20 г зеленой массы сахарной свеклы помещают в коническую колбу объемом 250 мл. Прибавляют 40 мл ацетонитрила и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну, затем колбу встряхивают 10 мин на механическом встряхивателе. Процедуру экстракции повторяют еще 2 раза, используя по 40 мл ацетонитрила. Экстракты фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в делительную воронку на 250 мл.

В воронку добавляют 5 г хлорида натрия, интенсивно встряхивают в течение 30 с. После разделения слоев нижний водный слой с остатками нерастворившегося хлорида натрия отбрасывают.

К оставшемуся в делительной воронке верхнему слою прибавляют 30 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт снова переносят в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки экстракта гексаном еще 2 раза, используя по 30 мл гексана. После завершающей промывки нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через слой безводного сульфата натрия.

Экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С. В концентратор добавляют 2 мл ацетона, тщательно растворяют сухой остаток, для чего концентратор помещают на 30 с в ультразвуковую ванну. Добавляют 20 мл гексана, тщательно перемешивают и обмывают стенки. Содержимое концентратора переносят в делительную воронку на 250 мл. В концентратор повторно добавляют 20 мл гексана, тщательно обмывают стенки. Гексан переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям гексана добавляют 50 мл 0,1 н раствора соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде и встряхивают воронку 1 мин. После полного разделения слоев водный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 200—500 мл. Верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции Карбофурана из гексана 0,1 н раствором соляной кислоты еще 3 раза, используя по 50 мл раствора. Нижние водные слои фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 250—500 мл. После завершающей экстракции гексановый слой отбрасывают.

Переносят раствор из конической колбы в делительную воронку на 500 мл и добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После разделения слоев нижний мителенхлоридный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через безводный сульфат натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции хлористым метиленом еще 3 раза, используя по 50 мл. Нижний слой после каждой экстракции пропускают через безводный сульфат натрия и объединяют в концентраторе на 250 мл.

Хлористый метилен упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 мин.

Далее проводят процедуру очистки на концентрирующем патроне Диапак-Нитрил, как описано в п. 2.5.2.2.

2.5.5. Семена рапса (горчицы)

Образец размолотых семян рапса массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл. Прибавляют 40 мл ацетонитрила и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну, затем перемешивают смесь 10 мин на механическом встряхивателе. Процедуру экстракции повторяют

еще 2 раза, используя по 40 мл ацетонитрила. Экстракты фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в делительную воронку на 250 мл.

К объединенному экстракту в делительной воронке прибавляют 40 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитрильный экстракт из химического стакана снова переносят в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки экстракта гексаном еще 3 раза, используя по 30 мл гексана. После завершающей промывки нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через безводный сульфат натрия.

Ацетонитрильный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С до масляного остатка. Добавляют в концентратор к масляному остатку 20 мл хлористого метилена. Растворяют масло, тщательно перемешивают. Растворенное масло переносят в делительную воронку на 250 мл. В концентратор, в котором упаривался экстракт, добавляют еще 20 мл хлористого метилена и помещают его в ультразвуковую ванну на 30 с. Тщательно обмывают стенки и хлористый метилен из концентратора переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям хлористого метилена добавляют 40 мл 0,05 н раствора соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде. Интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Для того чтобы разбить образующуюся эмульсию, в делительную воронку, при плавном перемешивании, порциями по 0,5 мл прибавляют 0,5—2,0 мл 40 %-ного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты. Оставляют делительную воронку в покое до разделения слоев. После полного разделения слоев нижний митиленхлоридный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл. Скоагулировавшийся белок оставляют в делительной воронке. Верхний слой с хлопьями белка отбрасывают. Делительную воронку ополаскивают небольшим количеством деионизированной бидистиллированной воды. Хлористый метилен из химического стакана снова переносят в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки экстракта раствором соляной кислоты еще 2 раза, используя по 40 мл раствора. При этом также может образовываться стойкая суспензия. Для ее разрушения следует добавлять при плавном перемешивании 0,5—2,0 мл 40 %-ного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты. После завершающей промывки нижний метиленхлоридный слой фильтруют в

концентратор на 100 мл через бумажный фильтр «красная лента», на который добавлено 5 г безводного сульфата натрия.

Хлористый метилен упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С до масляного остатка. Добавляют в концентратор к масляному остатку 20 мл гексана. Растворяют масло, тщательно перемешивают. Масло, растворенное в гексане, переносят в делительную воронку на 250 мл. В концентратор добавляют еще 20 мл гексана и помещают в ультразвуковую ванну на 30 с, тщательно обмывают стенки. Гексан из концентратора переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям гексана добавляют 50 мл 0,1 н раствора соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде. Осторожно встряхивают 1 мин. Если при встряхивании образуется суспензия, то ее разбивают, медленно помешивая содержимое делительной воронки стеклянной палочкой. При необходимости в делительную воронку можно, при плавном перемешивании, прибавить 0,5 мл 40 %-ного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты. После полного разделения слоев водный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250—500 мл. Верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции из гексана 0,1 н раствором соляной кислоты еще 3 раза, используя по 50 мл раствора. Нижние водные слои фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 250—500 мл.

Переносят экстракт в соляной кислоте из конической колбы в делительную воронку на 500 мл и добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После разделения нижний метиленхлоридный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через безводный сульфат натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции хлористым метиленом еще 3 раза, используя по 50 мл. Нижний слой после каждой экстракции пропускают через безводный сульфат натрия и объединяют в концентраторе на 250 мл.

Хлористый метилен упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 мин.

Далее проводят процедуру очистки на концентрирующем патроне Диапак-Нитрил, как описано в п. 2.5.2.2.

2.5.6. Масло рапса (горчицы)

Образец масла массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл и растворяют его в 20 мл гексана, тщательно перемешивая. Раствор переносят в делительную воронку на 250 мл. В коническую колбу добавляют еще 20 мл гексана. Колбу помещают в ультразвуковую ванну на 30 с, тщательно обмывают стенки и раствор переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям гексана добавляют 30 мл ацетонитрила. Интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в концентратор на 100 мл. Верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции из гексана еще 2 раза, используя по 30 мл ацетонитрила, фильтруя каждый раз нижний слой через бумажный фильтр, и объединяют экстракты в концентраторе на 100 мл.

Ацетонитрил упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С до масляного остатка. Добавляют в концентратор к масляному остатку 20 мл гексана. Масло, растворенное в гексане, переносят в делительную воронку на 250 мл. В концентратор добавляют еще 20 мл гексана. Колбу помещают в ультразвуковую ванну на 30 с, тщательно обмывают стенки и раствор переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям гексана добавляют 50 мл 0,1н раствора соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде. Аккуратно встряхивают 1 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250—500 мл. Верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции из гексана раствором соляной кислоты еще 3 раза, используя по 50 мл раствора. Нижние водные слои собирают в коническую колбу на 250—500 мл, фильтруя через бумажный фильтр.

Переносят экстракт из конической колбы в делительную воронку на 500 мл и добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Нижний метиленхлоридный слой собирают в концентратор на 250 мл, пропуская его через безводный сульфат натрия. Верхний водный слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции хлористым метиленом еще 3 раза, используя по 50 мл экстрагента. Нижние метиленхлоридные слои объединяют в концентраторе на 250 мл, фильтруя через слой безводного сульфата натрия.

Хлористый метилен упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С досуха. Остатки растворителя отдувают из концентратора воздухом комнатной температуры не менее 3 мин.

Далее проводят процедуру очистки на концентрирующем патроне Диапак-Нитрил, как описано в п. 2.5.2.2.

2.6. Условия хроматографирования и результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

Хроматограф «Кристалл 2000М» с термоионным детектором или другой с аналогичными характеристиками.

Капиллярная кварцевая колонка SE-30, длина 25 м или SE-54, длина 25 м.

Температура детектора – 300 °С, испарителя – 250 °С, программированный нагрев колонки – со 130 °С (выдержка 3 мин) до 210 °С (выдержка 10 мин) по 15 град./мин.

Газ 1: тип регулятора расхода газа РРГ 11, давление 79 кПа.

Газ 2 (гелий) – 2,5 мл/мин: расход 0,5 мл/мин, сброс 1 : 5.

Режим Splitless, начало сброса 5 сек, длительность сброса 30 с, минимальный расход 20 мл/мин.

Газ 3 (азот, поддув детектора) – 40 мл/мин.

Воздух 200 мл/мин, водород 14 мл/мин.

Продувка детектора и испарителя по 40 мл/мин в течение 2 мин при температуре колонки 240 °С.

Время удерживания для колоник SE-30 – 12,5—13,3 мин, для колонки SE-54 – 13,8-14,1 мин.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Содержание Карбофурана в пробе рассчитывают по формуле:

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

X – содержание карбофурана в пробе, мг/кг (мг/мл);

$S_{ст}$ – 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 (объем) анализируемого образца, г (мл);

P – содержание Карбофурана в аналитическом стандарте, %.

3. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами. Карбофуран является чрезвычайно опасным веществом, поэтому все работы по приготовлению стандартных растворов необходимо проводить в вытяжном шкафу.

4. Разработчики

Калинин В. А., проф., к. с-х. н., Довгилевич Е. В., к. биол. н., Быков К.В., Рыбакова О. И.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева. УНКЦ «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов», 127550, г. Москва, Тимирязевская ул., 53, стр. 1., телефон/факс 976-43-26.

gost.e-ecolog.ru