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

Г. Г. Онищенко
16 марта 2003 г.
Дата введения: 1 июля 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

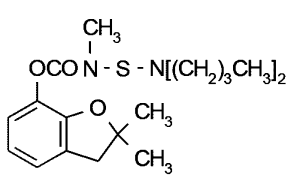
Определение остаточных количеств карбосульфана и его основного метаболита карбофурана в клубнях картофеля и почве; метаболитов карбофурана – 3-гидроксикарбофурана в клубнях картофеля и 3-кетокарбофурана в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1240—03

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовой концентрации карбосульфана и его метаболитов карбофурана и 3-гидроксикарбофурана в клубнях картофеля в диапазоне 0,05—0,3 мг/кг, а также карбосульфана и его метаболитов карбофурана и 3-кетокарбофурана в почве в диапазоне 0,01—0,1 мг/кг.

Карбосульфан – действующее вещество репарата МАРШАЛ, КЭ (250 г/л), фирма-производитель ФМС Европа НВ (США).

2,3-дигидро-2,2-диметилбензофуран-7-ил(дибутиламинотио)метилкарбамат (IUPAC)



Эмпирическая формула: $C_{20}H_{32}N_2O_3S$.

Молекулярная масса: 380,5.

Вязкая жидкость от светло-желтого до бурого цвета со слабым фенольным запахом. Температура кипения 124—128 °С при 0,1 Па. Препарат разлагается при температуре выше 150 °С. Давление паров при

gost.e-ecolog.ru

20 °С: $0,16 \times 10^{-6}$ мм рт. ст. Растворимость в органических растворителях при 20 °С: более 50 % в ксилоле, н-гексане, хлороформе, метаноле, хлористом метилене и ацетоне. Растворимость в воде – 0,3 мг/дм^3 (25 °С). Стабилен в этилацетате при 60 °С, разрушается при pH ниже 7.

Период полураспада в водных растворах (при 25 °С): менее часа (pH 4), 22 часа (pH 6), 184 часа (pH 7), 340 часов (pH 8), более 1 400 часов (pH 9).

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 250 мг/кг (самцы), 185 мг/кг (самки); острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов – > 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс – 1,53 мг/дм^3 (самцы), 0,63 мг/дм^3 (самки).

Гигиенические нормативы

ОДК в почве – 0,01 мг/кг по карбофурану.

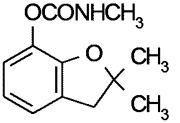
МДУ в картофеле (с учетом содержания метаболитов) – 0,25 мг/кг.

В почве карбосульфан быстро разлагается. Период его полураспада ($ДТ_{50}$) в зависимости от типа почвы колеблется от 2 до 12 дней. Вещество хорошо связывается с почвой. Основным метаболитом карбосульфана при распаде в почве является карбофуран. Период полураспада ($ДТ_{50}$) карбофурана в лабораторных условиях составляет диапазон от 3 до 100 дней, в полевых в среднем он равен 50 дням. Продуктом дальнейшей деградации карбофурана является 3-кетокарбофуран (содержание от 5 до 20 %).

В растениях идентифицированы 8 метаболитов, среди которых преобладают карбофуран и 3-гидроксикарбофуран.

Карбофуран

2,3-дигидро-2,2-диметилбензофуран-7-ил N-метилкарбамат (IUPAC)



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{15}NO_3$.

Молекулярная масса 221,3.

Белое кристаллическое вещество со слабым запахом фенола. Температура плавления 150—152 °С. Давление паров при 33 °С: 2,7 мПа. Растворимость в органических растворителях при 25 °С (г/кг): 1-метил-2-пирролидон – 300; диметилформамид – 270; диметилсульфоксид – 250; ацетон – 150; ацетонитрил – 140; дихлорметан – 120; циклогексанон – 90; бензол, этанол – 40. Растворимость в воде при 25 °С – 351 мг/дм^3.

Карбофуран стабилен в водных растворах при pH 3; с увеличением pH его стабильность уменьшается: период полураспада при pH 5 – 28 дней, при pH 7 – 21 день, при pH 9 – около 21 ч.

3-гидроксикарбофуран

2,3-дигидро-2,2-диметил-3-гидроксибензофуран-7-ил N-метилкарбамат (IUPAC)

Эмпирическа формула: $C_{12}H_{15}NO_4$.

Молекулярная масса: 237,3.

Белое кристаллическое вещество.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 18 мг/кг.

3-кетокарбофуран

2,3-дигидро-2,2-диметил-3-кетобензофуран-7-илN-метилкарбамат (IUPAC)

Эмпирическая формула: $C_{12}H_{13}NO_4$.

Молекулярная масса: 235,3.

Белое кристаллическое вещество.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 69 мг/кг.

Область применения препарата

Карбосульфан – инсектицид и нематоцид системного и контактного действия, рекомендуемый для борьбы с почвообитающими и листогрызущими насекомыми – вредителями цитрусовых, люцерны, кукурузы, сорго, сои, овощных и полевых культур, включая картофель (колорадский жук, картофельная нематода, проволочник).

1. Метрологические характеристики метода

Метрологические характеристики метода представлены в табл. 1.

Таблица 1

Метрологические параметры

Определяемое вещество	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 24$				
	предел обнаружения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, %
Клубни картофеля					
Карбосульфан	0,05	0,05—0,3	76,90	4,89	± 2,1
Карбофуран	0,05	0,05—0,3	75,95	5,02	± 2,1
3-Гидроксикарбофуран	0,05	0,05—0,3	77,76	4,08	± 1,7
Почва					
Карбосульфан	0,01	0,01—0,1	83,57	4,80	± 2,5
Карбофуран	0,01	0,01—0,1	83,38	4,58	± 2,4
3-Кетокарбофуран	0,01	0,01—0,1	83,47	4,37	± 2,3

2. Метод измерений

Методика основана на определении веществ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после экстракции из анализируемых проб клубней картофеля смесью н-гексана с ацетоном (4 : 1), почвы – ацетоном, затем хлористым метиленом, очистки экстракта на колонке с оксидом алюминия.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в интенсивной технологии выращивания картофеля (хлор- и фосфорорганические пестициды, симм-триазины, фенилмочевины, пиретроиды).

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США) или приборы с аналогичными техническими характеристиками	№ Госреестра 15945—97
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 34104—80Е
Весы лабораторные общего назначения, с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ 7328
Иономер ЭВ-74	ГОСТ 22261—76
Колбы мерные, вместимостью 50, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки градуированные 2-го класса точности, вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 и 15 $см^3$	ГОСТ 29227
Пипетки с одной меткой 2-го класса точности, вместимостью 15 $см^3$	ГОСТ 29169
Цилиндры мерные 2-го класса точности, вместимостью 10, 25, 50, 100, 200, 500 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74Е

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Карбосульфан аналитический стандарт с содержанием д.в. 90,1 % (фирмы ФМС, США) или другого производителя	
Карбофуран аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,5 % (фирмы ФМС, США) или другого производителя	

3-гидроксикарбофуран аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,2 % (фирмы ФМС, США) или другого производителя	
3-кетокарбофуран аналитический стандарт с содержанием д.в. 98,0 % (фирмы ФМС, США) или другого производителя	
Алюминий окись L 40/250 меш (фирмы «Лахема», Чехия)	
Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ-6-09-4326—76
Борная кислота, хч	ГОСТ 9656—75
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	
н-гексан, хч	ТУ-6-09-3375—78
Метилен хлористый (дихлорметан), хч	ГОСТ 12794—80
Натрий гидроксид (натр едкий), чда	ГОСТ 4328—77
Натрий серно-кислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Хлороводородная (соляная) кислота, 0,1 н раствор из фиксанала (стандарт-титр)	ТУ 6-09-2540—72
Этиловый эфир уксусной кислоты, ч	ГОСТ 22300—76

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Аппарат для встряхивания типа АВУ-6с	ТУ 64-1-2851—78
Бумажные фильтры «белая лента», обеззоленные	ТУ 6-09-2678—77
Воронки конусные диаметром 30—37 и 60 мм	ГОСТ 25336—82Е
Груша резиновая	
Колбы плоскодонные, вместимостью 200—250 $см^3$	ГОСТ 9737—70
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 10, 100 и 250 $см^3$	ГОСТ 9737—70
Колонка стеклянная, внутренним диаметром 8—10 мм, высотой 25 см	
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696—75
Ректификационная колонна с числом теоретических тарелок не менее 50	
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	ТУ 25-11-917—74
Сито с диаметром отверстий 1мм	
Стаканы химические, вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336—82Е
Стекловата	

Стеклянные палочки
Установка для перегонки растворителей
Набор для фильтрации растворителей через мембрану
Хроматографическая колонка стальная, длиной 25 см, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Zorbax ODS, зернением 5 мкм
Хроматографическая колонка стальная, длиной 20 см, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Spherisorb S5 ODS 2, зернением 5 мкм
Шкаф сушильный ТУ 64-1-1411—76
Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа, вместимостью 50—100 мм^3

Допускается применение другого оборудования и хроматографических колонок с аналогичными техническими характеристиками, обеспечивающими аналогичное разделение.

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами (ГОСТ 12.1005—88).

4.2. При выполнении измерений с использованием газового и жидкостного хроматографов соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают лиц, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят согласно ГОСТ 15150—69 при температуре воздуха (20 ± 5) °С, атмосферном давлении 630—800 мм рт. ст. и относительной влажности не более 80 %;
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к определению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей, подготовка буферного раствора, подвижных фаз для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической ко-

лонки, приготовление стандартных растворов, построение градуировочных характеристик, подготовка колонки для очистки экстракта, проверка хроматографического поведения веществ на колонке с оксидом алюминия.

7.1. Подготовка органических растворителей

7.1.1. Очистка ацетонитрила

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

7.1.2. Очистка этилацетата

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

7.1.3. Очистка ацетона

Растворитель сушат над молекулярными ситами 4 А и подвергают фракционной перегонке на ректификационной колонне, целиком собранной из стекла с числом теоретических тарелок не менее 30. До начала отбора главной фракции приемник несколько раз промывают дистиллятом. Перегонку продолжают до тех пор, пока в сосуде для перегонки не останется приблизительно 100 $см^3$ ацетона. Температуру водяной бани следует снижать по мере уменьшения объема ацетона, во всех случаях она не должна превышать температуру кипения ацетона более чем на 20°.

7.1.4. Очистка н-гексана

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

7.2. Подготовка буферного раствора (pH 8)

Для приготовления 1 н раствора едкого натра в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают 4,0 г вещества, растворяют в 40—50 $см^3$ дистиллированной воды, доводят водой до метки, тщательно перемешивают.

Навеску борной кислоты массой 12,367 г помещают в коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, вносят 100 $см^3$ 1 н раствора едкого натра, перемешивают.

Аликвоту полученного раствора борной кислоты объемом 53,4 $см^3$ помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят объем до метки 0,1 н раствором соляной кислоты. Контролируют pH буферного раствора с помощью иономера, при необходимости доводят значение до pH 8, применяя 0,1 н растворы соляной кислоты или едкого натра.

7.3. Подготовка подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ (анализ карбосульфана по п.п. 9.3.1.1 и 9.3.2.1)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 850 $см^3$ ацетонитрила, добавляют 150 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.4. Подготовка подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ (анализ карбофурана по п.п. 9.3.1.2 и 9.3.2.2)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 380 $см^3$ ацетонитрила, добавляют 620 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.5. Подготовка подвижной фазы № 3 для ВЭЖХ (анализ 3-гидроксикарбофурана и 3-кетокарбофурана соответственно по п.п. 9.3.1.3 и 9.3.2.3)

В мерную колбу вместимостью 1 000 $см^3$ помещают 280 $см^3$ ацетонитрила, добавляют 720 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.6. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку соответствующей подвижной фазой (№№ 1, 2, 3) до установления стабильной базовой линии. Скорость подачи растворителя при анализе картофеля – 1 $см^3$/мин, почвы – 0,4 $см^3$/мин.

7.7. Приготовление стандартных растворов для градуировки

7.7.1. Исходные стандартные растворы для градуировки (концентрация 1 мг/$см^3$)

В мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ раздельно помещают 0,1110 г карбосульфана (0,1005 г карбофурана, 0,1018 г 3-гидроксикарбофурана, 0,1020 г 3-кетокарбофурана), доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

Исходные стандартные растворы хранятся в морозильной камере в течение 3 месяцев в плотно закрытой посуде.

7.7.2. Растворы № 1 для градуировки (концентрация 10 мкг/$см^3$)

В мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ помещают 1 $см^3$ каждого исходного стандартного раствора карбосульфана (карбофурана, 3-гидрокси-

карбофурана, 3-кетокарбофурана) с концентрацией 1 мг/см^3, доводят до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают. Растворы хранятся в морозильной камере в течение 3 месяцев в плотно закрытой посуде.

7.7.3. Рабочие растворы №№ 2—7 для градуировки (соответствуют концентрациям 0,05—1,5 мкг/см^3)

При анализе образцов клубней картофеля в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 15—20 см^3 ацетонитрила, вносят с помощью пипетки 15; 10; 5 и 2,5 см^3 раствора № 1 концентрации 10 мкг/см^3 в ацетонитриле (п. 7.7.2), перемешивают, доводят до метки ацетонитрилом, вновь перемешивают. Получают растворы карбосульфана, карбофурана и 3-гидроксикарбофурана №№ 2—5 с концентрациями 1,5; 1,0; 0,5 и 0,25 мкг/см^3.

При анализе образцов почвы в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 15—20 см^3 ацетонитрила, вносят с помощью пипетки 5; 2,5; 1,0 и 0,5 см^3 раствора № 1 карбосульфана и карбофурана с концентрацией 10 мкг/см^3 в ацетонитриле (п. 7.7.2), перемешивают, доводят до метки ацетонитрилом, вновь перемешивают. Получают растворы карбосульфана и карбофурана №№ 4—7 с концентрациями 0,5; 0,25; 0,1 и 0,05 мкг/см^3. Для приготовления рабочих растворов 3-кетокарбофурана в мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 15—20 см^3 подвижной фазы № 3 для ВЭЖХ (п. 7.5), вносят с помощью пипетки 5; 2,5; 1,0 и 0,5 см^3 раствора № 1 концентрации 10 мкг/см^3 в ацетонитриле (п. 7.7.2), перемешивают, доводят до метки подвижной фазой № 3 для ВЭЖХ, вновь перемешивают. Получают рабочие растворы 3-кетокарбофурана №№ 4—7 с концентрациями 0,5; 0,25; 0,1 и 0,05 мкг/см^3.

Растворы готовят непосредственно перед работой.

Для оценки полноты извлечения карбосульфана, карбофурана, 3-гидроксикарбофурана и 3-кетокарбофурана из картофеля и почвы (методом «внесено–найдено») их стандартные растворы готовят на ацетоне.

7.8. Приготовление стандартных растворов для проверки хроматографического поведения веществ на колонке с оксидом алюминия

7.8.1. Исходные стандартные растворы (концентрация 1 мг/см^3)

В мерные колбы вместимостью 100 см^3 раздельно помещают 0,1110 г карбосульфана (0,1005 г карбофурана, 0,1018 г 3-гидроксикарбофурана, 0,1020 г 3-кетокарбофурана), доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают.

Исходные стандартные растворы в этилацетате хранятся в морозильной камере в течение 3 месяцев в плотно закрытой посуде.

7.8.2. Растворы № 1а в этилацетате (концентрация 10 мкг/см^3)

В мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 каждого исходного стандартного раствора карбосульфана (карбофурана, 3-гидроксикарбофурана, 3-кетокарбофурана) в этилацетате с концентрацией 1 мг/см^3, доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивают. Растворы хранятся в морозильной камере в течение 3 месяцев в плотно закрытой посуде.

Примечание. Для предотвращения деградации определяемых веществ необходимо безусловное соблюдение позиций, изложенных в п.п. 7.7 и 7.8.

7.9. Построение градуировочных характеристик

Для построения градуировочных характеристик в инжектор хроматографа вводят по 20 мкл рабочих стандартных растворов, соответствующих концентрациям карбосульфана, карбофурана и 3-гидроксикарбофурана 0,25; 0,5; 1,0 и 1,5 мкг/см^3 (клубни картофеля); карбосульфана, карбофурана и 3-кетокарбофурана – 0,05; 0,1; 0,25 и 0,5 мкг/см^3 (почва), хроматографируют в соответствии с п.п. 9.3.1.1, 9.3.1.2, 9.3.1.3 или 9.3.2.1, 9.3.2.2, 9.3.2.3.

Осуществляют не менее 5 параллельных измерений. Находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. Строят градуировочные графики зависимости площади хроматографического пика (отн. единицы) от концентрации веществ в растворе (мкг/см^3).

7.10. Подготовка колонки с оксидом алюминия для очистки экстракта

Оксид алюминия сушат в сушильном шкафу при 150 °С в течение 2 ч, охлаждают в эксикаторе, затем дезактивируют водой (4 % по массе).

Нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см, внутренним диаметром 8—10 мм уплотняют тампоном из стекловаты, медленно выливают в колонку (при открытом кране) суспензию 4 г оксида алюминия в 15—20 см^3 этилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 0,5 см. Колонку промывают 10 см^3 ацетона, затем 20 см^3 этилацетата со скоростью 1—2 капли в 1 с. После этого колонка готова к работе.

7.11. Проверка хроматографического поведения карбосульфана, карбофурана, 3-гидроксикарбофурана и 3-кетокарбофурана на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 см^3 помещают по 0,5 см^3 стандартного раствора № 1а (п. 7.8.2) карбосульфана, карбофурана и

3-гидроксикарбофурана при анализе клубней картофеля (или карбосульфана и карбофурана при анализе почвы), перемешивают и наносят на колонку, подготовленную по п. 7.11. Промывают колонку 30 см^3 этилацетата, затем 30 см^3 ацетона (при анализе проб почвы только 30 см^3 этилацетата) со скоростью 1—2 капли в 1 с. Фракционно (по 5 см^3) отбирают элюат, упаривают, остатки растворяют в 5 см^3 ацетонитрила, анализируют на содержание карбосульфана, карбофурана и 3-гидроксикабофурана соответственно по п.п. 9.3.1.1 (9.3.2.1), 9.3.1.2 (9.3.2.2), 9.3.1.3.

Фракции, содержащие карбосульфан и карбофуран, объединяют вместе, 3-гидроксикарбофуран – отдельно, упаривают досуха, остатки в колбах растворяют в 10 см^3 ацетонитрила, анализируют соответственно по п.п. 9.3.1.1 (9.3.2.1), 9.3.1.2 (9.3.2.2), 9.3.1.3.

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

Проверку хроматографического поведения 3-кетокарбофурана на колонке с оксидом алюминия (при анализе почвы) проводят отдельно. Для этого на колонку, подготовленную по п. 7.11, с помощью пипетки наносят 0,5 см^3 стандартного раствора № 1а 3-кетокарбофурана, промывают колонку 30 см^3 этилацетата со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 5 см^3 каждая, упаривают, остатки растворяют в 5 см^3 подвижной фазы № 3 (п. 7.5) и анализируют содержание 3-кетокарбофурана по п. 9.3.2.3. Рассчитывают уровень вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

Примечание. Проверку хроматографического поведения карбосульфана, карбофурана, 3-гидроксикарбофурана и 3-кетокарбофурана следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбентов и растворителей.

8. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051-79 от 21.08.79).

Отобранные пробы почвы и клубней картофеля анализируют в день отбора или хранят 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 клубней картофеля для длительного хранения замораживают и хранят при температуре –18 °С. Непосредственно перед анализом образцы картофеля измельчают.

9. Выполнение определения

9.1. Клубни картофеля

9.1.1. Экстракция

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г помещают в коническую колбу вместимостью 200—250 см^3, вносят 4 см^3 буферного раствора (по п. 7.2), добавляют 80 см^3 смеси н-гексана с ацетоном (4 : 1, по объему), встряхивают на механическом встряхивателе в течение 10 мин.

После отстаивания раствор осторожно декантируют в круглодонную колбу вместимостью 150—250 см^3, фильтруя через слой (2 см) безводного сульфата натрия, помещенный в конусную химическую воронку диаметром 60 мм, снабженную бумажным фильтром «белая лента». Пробу подвергают дополнительной экстракции 80 см^3 хлористого метилена при встряхивании в течение 5 мин. Отстоявшийся раствор хлористого метилена (нижняя фаза) отбирают с помощью пипетки и фильтруют в колбу с ранее полученным экстрактом. Затем промывают фильтр 10—15 см^3 хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С, подвергают очистке в соответствии с п. 9.1.2.

9.1.2. Очистка экстракта

Остаток, полученный по п. 9.1.1, с помощью 1,5—2 см^3 этилацетата порциями переносят в колонку, дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Карбосульфан и карбофуран элюируют с колонки 25 см^3 этилацетата, собирая элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 (колба № 1), 3-гидроксикарбофуран – 25 см^3 ацетона, собирая элюат в отдельную круглодонную колбу (колба № 2). Этилацетатный и ацетоновый растворы упаривают раздельно на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С почти досуха, вносят в колбы по 3—4 см^3 н-гексана, вновь упаривают. Операцию упаривания с н-гексаном повторяют трижды.

Остатки в колбах растворяют в 4 см^3 ацетонитрила и анализируют на содержание карбосульфана и карбофурана (раствор в колбе № 1), а также 3-гидроксикарбофурана (раствор в колбе № 2) соответственно по п.п. 9.3.1.1, 9.3.1.2 и 9.3.1.3.

9.2. Почва

9.2.1. Экстракция

Образец суховоздушной почвы массой 10 г помещают в коническую колбу вместимостью 200—250 см^3, добавляют 50 см^3 ацетона и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 10 мин.

Отстоявшийся раствор осторожно декантируют через химическую воронку диаметром 60 мм, снабженную бумажным фильтром «белая лента», в круглодонную колбу вместимостью 150—250 см^3. Пробу подвергают дополнительной экстракции 40 см^3 хлористого метилена при встряхивании в течение 5 мин. Отстоявшийся раствор фильтруют в колбу с ранее полученным экстрактом, промывают фильтр 10—15 см^3 хлористого метилена.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С и подвергают очистке в соответствии с п. 9.2.2.

9.2.2. Очистка экстракта

Остаток, полученный по п. 9.2.1, с помощью 1,5—2 см^3 этилацетата порциями переносят в колонку, дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Карбосульфан, карбофуран и 3-кетокарбофуран элюируют с колонки 25 см^3 этилацетата, собирая элюат в мерный цилиндр (с пришлифованной пробкой) вместимостью 25 см^3. Элюат тщательно перемешивают, две равные его части помещают в отдельные круглодонные колбы, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С почти досуха, вносят в колбы по 3—4 см^3 н-гексана, вновь упаривают. Операцию упаривания с н-гексаном повторяют трижды.

Остаток в первой колбе растворяют в 1 см^3 ацетонитрила, анализируют на содержание карбосульфана и карбофурана соответственно по п.п. 9.3.2.1 и 9.3.2.2. К остатку во второй колбе добавляют 0,2 см^3 ацетонитрила, тщательно перемешивают, вращая колбу круговыми движениями, затем вносят 0,8 мл подвижной фазы № 3 (п. 7.5), вновь тщательно перемешивают, помещают на ультразвуковую баню на 2 мин, анализируют содержание 3-кетокарбофурана по 9.3.2.3.

9.3. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором (Perkin-Elmer, США)

9.3.1. Клубни картофеля

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 4,0 мм, содержащая Zorbax ODS, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Скорость потока элюента: 1 см^3/мин

Рабочая длина волны: 220 нм

Чувствительность: 0,01 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 20 мкл

9.3.1.1. Определение карбосульфана.

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (85 : 15, по объему)

Время выхода карбосульфана: 7,52—7,73 мин

9.3.1.2. Определение карбофурана

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (38 : 62, по объему)

Время выхода карбофурана: 7,91—8,12 мин

9.3.1.3. Определение 3-гидроксикарбофурана

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (28 : 72, по объему)

Время выхода 3-гидкорсикарбофурана: 3,99—4,02 мин

Линейный диапазон детектирования 5—30 нг

Образцы, дающие пики, большие чем стандартные растворы с концентрацией 1,5 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом.

9.3.2. Почва

Колонка стальная длиной 20 см, внутренним диаметром 2 мм, содержащая Spherisorb S5 ODS 2, зернением 5 мкм

Температура колонки: комнатная

Скорость потока элюента: 0,4 см^3/мин

Рабочая длина волны: 220 нм

Объем вводимой пробы: 20 мкл

9.3.2.1. Определение карбосульфана

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (85 : 15, по объему)

Чувствительность: 0,01 ед. абсорбции на шкалу

Время выхода карбосульфана: 8,63—8,76 мин

9.3.2.2. Определение карбофурана

Подвижная фаза: ацетонитрил—вода (38 : 62, по объему)

Чувствительность: 0,01 ед. абсорбции на шкалу

Время выхода карбофурана: 6,83—6,92 мин

9.3.2.3. Определение 3-кетокарбофурана

Подвижная фаза: ацетонитрил–вода (28 : 72, по объему)

Чувствительность: 0,02 ед. абсорбции на шкалу

Время выхода 3-кетокарбофурана: 7,87—8,1 мин

Линейный диапазон детектирования 1—10 нг

Образцы, дающие пики, большие чем стандартные растворы с концентрацией 0,5 мкг/см^3, разбавляют ацетонитрилом при определении карбосульфана и карбофурана или подвижной фазой № 3 при определении 3-кетокарбофурана.

10. Обработка результатов анализа

10.1. Клубни картофеля

Содержание карбосульфана в пробе с учетом его основных метаболитов (карбофурана и 3-гидроксикарбофурана) в эквиваленте действующего вещества рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A + Б \cdot K_1 + B \cdot K_2) \cdot V}{m}, \text{ где}$$

X – содержание карбосульфана в пробе с учетом его основных метаболитов (карбофурана и 3-гидроксикарбофурана), выраженное в эквиваленте д.в., мг/кг;

$А$, $Б$, $В$ – концентрации карбосульфана, карбофурана и 3-гидроксикарбофурана, найденные по градуировочным графикам, мкг/см^3;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m – масса анализируемого образца, г;

K_1 и K_2 – коэффициенты пересчета содержания карбофурана и 3-гидроксикарбофурана на эквивалент карбосульфана, равные соответственно 1,72 и 1,6.

10.2. Почва

Содержание карбосульфана в пробе с учетом его основных метаболитов (карбофурана и 3-кетокарбофурана) в эквиваленте действующего вещества рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(А + Б \cdot K_1 + Г \cdot K_3) \cdot V}{m}, \text{ где}$$

X – содержание карбосульфана в пробе с учетом его основных метаболитов (карбофурана и 3-кетокарбофурана), выраженное в эквиваленте д.в., мг/кг;

$А$, $Б$, $Г$ – концентрация карбосульфана, карбофурана, 3-кетокарбофурана, найденные по градуировочным графикам, мкг/см^3;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

m – масса анализируемого образца, г;

K_1 и K_3 – коэффициенты пересчета содержания карбофурана и 3-кетокарбофурана на эквивалент карбосульфана, равные соответственно 1,72 и 1,62.

11. Контроль погрешности измерений

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

12. Разработчики

Юдина Т. В., Федорова Н. Е., Волкова В. Н. Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (ФНЦГ им. Ф. Ф. Эрисмана).

141000, г. Мытищи Московской обл., ул. Семашко, д. 2, лаборатория аналитических методов контроля. Тел.: (095) 586-1276.

gost.e-ecolog.ru