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.

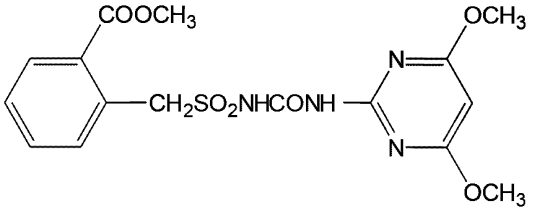
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств бенсульфурон-метила в воде, почве, зерне и соломе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1243—03

1. Вводная часть

Фирма-производитель: Комак Агрохим 2000.
Торговое наименование: Аризон.
Действующее вещество: бенсульфурон-метил.
Структурная формула:



α-(4,6-диметоксипиримидин-2-илкарбомоилсульфамоил)-*о*-толуиловой кислоты метиловый эфир (IUPAC).

Метил 2-[[[[[(4,6-диметоксипиридимин-2-ил) амино] карбонил] амино] сульфонил] метил] бензоат (С.А.).

Эмпирическая формула: $C_{16}H_{18}N_4O_7S$.

Молекулярная масса: 410,4.

Бесцветное или светло желтое без запаха кристаллическое вещество.

Температура плавления: 185—188 °С.

Давление паров при 25 °С: $2{,}8\times10^{-9}$ мПа.

gost.e-ecolog.ru

Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P (t = 30 °C) = 2,45 (pH 1,5), 0,62 (pH 7).

Растворимость в воде (мг/л, 25 °C): 2,9 (pH 5), 12 (pH 6), 120 (pH 7), 1 200 (pH 8). Растворимость (г/л, 20 °C): в ацетоне – 1,38; ацетонитриле – 5,38; дихлорметане – 11,7; этилацетате – 1,66; гексане >0,01; ксилене – 0,28.

Водные растворы наиболее стабильны в слегка щелочных условиях (pH 8), вещество медленно разлагается в кислых средах DT_{50} (25 °C): 11 дней (pH 5), 143 дня (pH 7); pKa – 5,2.

Гигиенические нормативы для бенсульфурон-метила в России:

ОДК в почве – 0,02 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,04 мг/л; МДУ для риса – 0,02 мг/кг.

Область применения препарата: бенсульфурон-метил – селективный системный гербицид, адсорбируемый листвой и корнями с быстрым перемещением к меристемным тканям. Используется для уничтожения многих видов однолетних и многолетних сорных растений.

2. Методика определения бенсульфурон-метила в воде, почве, зерне и соломе риса методом ВЭЖХ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении бенсульфурон-метила методом ВЭЖХ с использованием УФ детектора после его извлечения из образцов водно-ацетоновой смесью и очистке путем перераспределения между двумя жидкими фазами, а также на колонке с силикагелем.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Объект анализа	Предел обнаружения, мг/кг (л)	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг (л)	Среднее значение определения, % (для каждого объекта $n = 24$)	Относительное стандартное отклонение S, %	Доверительный интервал среднего, $n = 24$, $P = 0,95$
Вода	0,002	0,002—0,02	89,9	5,12	4,49
Почва	0,01	0,01—0,1	85,8	5,14	4,51
Зерно риса	0,01	0,01—0,1	83,2	4,34	3,80
Солома риса	0,02	0,02—0,2	80,8	6,84	6,00

2.1.3. Избирательность метода

Присутствие других пестицидов, близких по химическому строению и области применения, определению не мешает.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, чда	ГОСТ 2603—79
Ацетонитрил для ВЭЖХ, «В-230НМ» или, хч	ТУ 6-09-3534—87
Бумажные фильтры «красная лента»	ТУ 6.091678—86
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ 6709—79
Бенсульфурон-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 95 %	
Дихлорметан, хч	ТУ 2631-019-44493179—98
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Калий фосфорно-кислый 2-замещенный 3-водный, чда	ГОСТ 2493—75
Калия перманганат	ГОСТ 20490—75
Кислота ортофосфорная, чда, 85 %-ный раствор	ГОСТ 6552—80
Кислота серная, хч	
Натрий серно-кислый безводный, ч, свежепрокаленный	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, чда	ГОСТ 4233—77
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328—77
н-гексан, хч, свежеперегнанный	ТУ 2631-003-05807999—98
Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил – 0,005М ортофосфорная кислота (33 : 67, по объему)	
Силикагель для колоночной хроматографии 60 (40—63μm) (Merck, Германия или Хемапол, Чехия)	
Стекловата	
Фосфора пентоксид, ч	МРТУ 6-09-5759—69
Элюент № 1 для колоночной хроматографии: смесь гексан–ацетон (60 : 40, по объему)	
Элюент № 2 для колоночной хроматографии: смесь гексан–ацетон (40 : 60, по объему)	

2.3. Приборы и посуда

Жидкостный хроматограф «Альянс» фирмы «Waters» с УФ детектором (Waters 2487), снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки

Колонка Nova-Pac – C18 (150 × 3,9) мм, зернение 4 мкм (Waters, USA) или аналогичная

Предколонка Waters Nova-Pac – C18 (20 × 3,9) мм, зернение 5 мкм (Waters, USA)	
Весы аналитические ВЛА-200 или аналогичные	ГОСТ 34104—80Е
Установка ультразвуковая «Серьга»	ТУ 3.836.008
Мельница ножевая РМ-120 и лабораторная зерновая ЛМЗ	ТУ 1-01-0593—79
Ротационный испаритель вакуумный ИР-1М или аналогичный	ТУ 25-11-917—74
Бидистиллятор	
РН-метр универсальный ЭВ-74	ГОСТ 22261—76
Насос водоструйный	МРТУ 42 861—64
Колбы плоскодонные на шлифах КШ500 29/32 ТС	ГОСТ 10384—72
Колбы круглодонные на шлифах КШ50 29-32 ТС	ГОСТ 10384—72
Воронки лабораторные В-75-110	ГОСТ 25336—82
Воронки делительные на 500 $см^3$ ВД-3-500	ГОСТ 8613—75
Цилиндры мерные на 100, 250 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1774—74
Колбы мерные на 25, 50, 100 и 1 000 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки на 1, 2, 5, 10 $см^3$	ГОСТ 22292—74

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79). Пробы растительных материалов хранятся до анализа в морозильной камере при температуре –18 °С, перед проведением анализа их измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с типовыми методиками. Гексан и хлористый метилен встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания свежей порции кислоты, затем промывают водой, 2 %-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют. Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташем (на 1 л ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3). Ацетонитрил сушат над пентоксидом фосфора и перегоняют; отогнанный растворитель повторно перегоняют над углекислым калием.

2.5.2. Кондиционирование колонки

Перед началом анализа колонку Symmetry-C18 кондиционируют в потоке подвижной фазы (1 мл/мин) до стабилизации нулевой линии в течение 1—2 ч.

2.5.3. Приготовление растворов

Для приготовления 0,005М раствора ортофосфорной кислоты 0,5 г 98 % (или 0,56 г 87 %) кристаллической H_3PO_4 помещают в мерную колбу объемом 1 л, растворяют в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой. Для приготовления 0,5 М раствора $K_2HPO_4$114 г кристаллического $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ помещают в мерную колбу на 1 л, растворяют при перемешивании в 600 мл дистиллированной воды и доводят объем раствора до метки, 0,25 М раствор K_2HPO_4 готовят разбавлением в 2 раза 0,5 М раствора. Для получения 90 %-го водного ацетона в колбе емкостью 1 л смешивают 900 мл ацетона с 100 мл дистиллированной воды, используя мерные цилиндры.

Для приготовления элюента № 1 в колбе на 1 000 мл смешивают 600 мл н-гексана и 400 мл ацетона. Для приготовления элюента № 2 в колбе на 1 000 мл смешивают 400 мл н-гексана и 600 мл ацетона.

2.5.4. Подготовка подвижной фазы длф ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы смешивают 330 мл ацетонитрила с 670 мл 0,005 М ортофосфорной кислоты в колбе на 1 000 мл, смесь фильтруют, при необходимости дегазируют.

2.5.5. Приготовление стандартного и градуировочных растворов

Берут точную навеску бенсульфурон-метила (50 мг), переносят в мерную колбу на 50 мл, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят до метки (стандартный раствор с концентрацией 1,0 мг/мл). Градуировочные растворы с концентрациями 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 и 2,0 мкг/мл готовят методом последовательного разбавления, используя раствор подвижной фазы (смесь ацетонитрил – 0,005 М ортофосфорная кислота [33 : 67, по объему]). Стандартный раствор можно хранить в холодильнике при температуре 0—4 °С в течение 1 месяца, градуировочные растворы – в течение суток.

2.5.6. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация бенсульфурон-метила в растворе) в хроматограф вводят по 20 мкл градуировочных растворов (не менее 3 параллельных измерений для каждой концентрации, не менее 4 точек по диапазону измеряемых концентраций), измеряют площади пиков и строят график зависимости среднего значения площади пика от концентрации бенсульфурон-метила в градуировочном растворе (мкг/мл).

2.5.7. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1 см помещают тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 7,5 г силикагеля в 30 мл смеси гексан–ацетон (60 : 40, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента. Колонку последовательно промывают 50 мл смеси гексан–ацетон (40 : 60, по объему) и 50 мл смеси гексан–ацетон (60 : 40, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, после чего она готова к работе.

2.5.8. Проверка хроматографического поведения бенсульфурон-метила на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора бенсульфурон-метила с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 5 мл элюента № 1 и наносят на колонку. Колбу обмывают еще 5 мл элюента № 1 и также вносят на колонку. Промывают колонку 100 мл элюента № 1, затем 60 мл элюента № 2 со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 10 мл каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы (п. 2.5.3) и анализируют на содержание бенсульфурон-метила по п. 2.6.5.

Фракции, содержащие бенсульфурон-метил, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы и вновь анализируют по п. 2.6.5. Рассчитывают содержание бенсульфурон-метила в элюате, определяя полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для этого объем элюента.

Примечание. Параметры удерживания бенсульфурон-метила и сопутствующих экстрактивных веществ могут меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.5.9. Подготовка приборов и средств измерения

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

2.6. Проведение определения

2.6.1. Определение бенсульфурон-метила в воде

Образец предварительно отфильтрованной воды объемом 100 мл подкисляют 2 М H_3PO_4 до pH 3 (контроль осуществляют pH-метром) и экстрагируют хлористым метиленом трижды по 20 мл. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (3 г), осушитель промывают 10—15 мл хлористого метилена. Полученный раствор упаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. При необходимости проводят дополнительную очистку экстракта на колонке с силикагелем по пункту 2.6.4.

Сухой остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.2. Экстракция бенсульфурон-метила из проб почвы, зерна и соломы риса

Навеску массой 10 г измельченной на ножевой мельнице соломы риса или образцы воздушно-сухой почвы и измельченных на лабораторной мельнице зерен риса, массой 20 г помещают в коническую колбу емкостью 250 мл с притертой пробкой, добавляют 50 мл 90 %-го водного ацетона и экстрагируют в течение 15 мин на ультразвуковой бане. Суспензию фильтруют на стеклянной воронке через бумажный фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют 50 мл 90 %-ного водного ацетона. Объединенные экстракты упаривают до водного остатка (~10 мл) на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Водный остаток переносят в делительную воронку объемом 500 мл, добавляют 90 мл 0,25 М раствора K_2HPO_4. Далее очистку экстрактов проводят по п. 2.6.4.

2.6.3. Очистка экстрактов

Приготовленные по п.п. 2.6.2 и 2.6.3 экстракты промывают дважды 20 мл гексана (верхний органический слой отбрасывают) и 25 мл хлористого метилена (нижний органический слой отбрасывают), встряхивая делительную воронку каждый раз по 2—3 мин. Водный раствор подкисляют 2 М H_3PO_4 (~30 мл) до pH 3 (контроль осуществляют pH-метром) и экстрагируют хлористым метиленом трижды по 25 мл*. Объединенный экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия (3 г), осушитель промывают 10—15 мл хлористого метилена. Полученный раствор упаривают на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пункту 2.6.4**.

2.6.4. Очистка на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.п. 2.6.2 и 2.6.3 экстрактов почвы и растительного материала количественно переносят двумя 5-мл порциями смеси гексан–ацетон (60 : 40, по объему) в кондиционированную хроматографическую колонку (п. 2.5.6). Промывают колонку 100 мл элюента № 1, которые отбрасывают. Бенсульфурон-метил элюируют 60 мл элюента № 2, собирая элюат в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на вакуумном ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой

---

* В случае образования сравнительно стойких эмульсий для сокращения времени расслоения можно добавить в делительную воронку: на стадии промывки экстрактов гексаном и хлористым метиленом – небольшое количество (до 10 мл) этилового спирта, а на стадии переэкстракции – насыщенный раствор хлорида натрия (5—10 мл).

** В случаях, когда очистка экстрактов контрольных проб (п. 2.6.3) дает удовлетворительные результаты дополнительную очистку на колонке с силикагелем можно исключить.

остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы и 20 мкл раствора вводят в жидкостный хроматограф.

2.6.5. Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф «Альянс» фирмы «Waters» с УФ-детектором (Waters 2487), снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки или другой с аналогичными характеристиками.

Колонка Nova-Pac–C18 (150 × 3,9) мм, зернение 4 мкм (Waters, USA) или аналогичная

Температура колонки 30 ± 1 °С

Предколонка Waters Nova-Pac C–18 для защиты аналитической колонки

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,005М ортофосфорная кислота в объемном соотношении 33 : 67

Скорость потока элюента: 1 мл/мин

Рабочая длина волны: 237 нм

Объем вводимой пробы: 20 мкл

Время удерживания бенсульфурон-метила: 9,4 ± 0,1 мин

Линейный диапазон детектирования: 0,1—2,00 мкг/мл

Альтернативные условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф «Альянс» фирмы «Waters» с УФ-детектором (Waters 2487), снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки.

Колонка Symmetry – C18 (250 × 4,6) мм, зернение 5 мкм (Waters, USA).

Температура колонки: 30 ± 1 °С.

Предколонка Waters Symmetry C–18 для защиты аналитической колонки.

Подвижная фаза: ацетонитрил–0,005 М ортофосфорная кислота в соотношении 33 : 67 (по объему).

Скорость потока элюента: 1 мл/мин.

Рабочая длина волны: 237 нм.

Объем вводимой пробы: 20 мкл.

Время удерживания бенсульфурон-метила: 9,4 ± 0,1 мин.

Линейный диапазон детектирования: 0,1—2,00 мкг/мл.

2.6.6. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят методом абсолютной градуировки, содержание бенсульфурон-метила в образце воды, почвы или растительных материалов (X, мг/кг) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_2 \cdot C \cdot V}{S_1 \cdot P}, \text{ где}$$

S_1 – площадь пика бенсульфурон-метила в стандартном растворе, ед.адс×с;

S_2 – площадь пика бенсульфурон-метила в анализируемой пробе, ед.адс×с;

V – объем пробы, подготовленной для хроматографического анализа, мл;

P – навеска анализируемого образца, г, (для воды – объем, мл);

C – концентрация стандартного раствора бенсульфурон-метила, мкг/мл.

Содержание остаточных количеств бенсульфурон-метила в анализируемом образце вычисляют как среднее из 3 параллельных определений.

Образцы, дающие пики большие чем стандартный раствор бенсульфурон-метила 2 мкг/мл, разбавляют.

3. Требования техники безопасности

При проведении работы необходимо соблюдать требования инструкции «Основные правила безопасной работы в химической лаборатории», общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, а также инструкции по эксплуатации жидкостного хроматографа и электрооборудования до 400 В.

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

Юзихин О. С., Черменская Т. Д., Цибульская И. А., Долженко В. И.
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений.

gost.e-ecolog.ru