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, капусте, семенах и масле рапса (горчицы) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1391—03

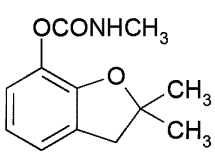
1. Вводная часть

Фирма-производитель: Агро-Кеми Кфт.

Торговое название препарата: Хинуфур, ВС, 436 г/л.

Название действующего вещества по ИСО: Карбофуран.

Название действующего вещества по ИЮПАК: О-(2,3-дигидро-2,2-диметилбензофуран-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.

gost.e-ecolog.ru

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. Высоко 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 под торговым названием: Хинуфур, концентрат суспензии (436 г/л), в качестве инсектицида для подавления численности крестоцветных блошек на рапсе при норме расхода 12—15 л/т семян, а также борьбы с комплексом почвообитающих и наземных вредителей сахарной и кормовой свеклы при норме расхода 12—23 л/т семян.

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

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Карбофурана методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием УФ-детектора, после его экстракции из анализируемой пробы органическим растворителем, очистки экстракта методом перераспределения между двумя несмешивающимися жидкими 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 ВЭЖХ представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

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	0,01	0,01—0,10	82,22	0,0287	82,22 ± 1,34
почва	0,005	0,005—0,050	74,40	0,0243	74,40 ± 1,14
корнеплоды сахарной свеклы	0,05	0,05—0,50	75,79	0,0344	75,79 ± 1,61
зеленая масса сахарной свеклы	0,05	0,05—0,50	79,84	0,0597	79,84 ± 2,796
капуста	0,05	0,05—0,50	75,51	0,0436	75,51 ± 2,04
семена рапса (горчицы)	0,05	0,05—0,50	80,39	0,0499	80,39 ± 2,34
масло рапса (горчицы)	0,05	0,05—0,50	81,61	0,0487	81,61 ± 2,28

Таблица 2

Доверительный интервал и полнота определения Карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, капусте, 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	0,0100	0,00819	0,0001	81,88
	0,0200	0,0163	0,0008	81,36
	0,0500	0,0412	0,0027	82,42
	0,1000	0,0832	0,0033	83,23
почва	0,0050	0,0036	0,0001	72,62
	0,0100	0,0074	0,0002	73,60
	0,0200	0,0152	0,0004	76,02
	0,0500	0,0377	0,0023	75,36
корнеплоды сахарной свеклы	0,05	0,0371	0,0020	74,19
	0,10	0,0782	0,0023	78,18
	0,20	0,1439	0,0014	71,94
	0,50	0,3944	0,0064	78,87
зеленая масса сахарной свеклы	0,05	0,0421	0,0044	84,25
	0,10	0,0847	0,0026	84,66
	0,20	0,1506	0,0071	75,29
	0,50	0,3758	0,0044	75,15
капуста	0,05	0,0386	0,0020	77,24
	0,10	0,0737	0,0018	73,72
	0,20	0,1454	0,0060	72,72
	0,50	0,3918	0,0416	78,37
семена рапса (горчицы)	0,0500	0,0393	0,0040	78,61
	0,1000	0,0768	0,0046	76,82
	0,2000	0,1635	0,0073	81,72
	0,5000	0,4225	0,0190	84,50
масло рапса (горчицы)	0,0500	0,0414	0,0012	82,79
	0,1000	0,0827	0,0046	82,71
	0,2000	0,1717	0,0095	85,85
	0,5000	0,3758	0,0110	75,16

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов близких по химическому строению (карбаматы), а также и других 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
Вода деионизированная бидистиллированная	ГОСТ 6709—79
Вода дистиллированная	ГОСТ 7602—72
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375—78
Калия гидроксид (кали едкое), хч	ОСТ 6-01-301—74
Калия перманганат, чда	ГОСТ 20490—75
Карбофуран, аналитический стандарт фирмы Chinoin Pharmaceutical and Chemical Works Co. Ltd., Венгрия, 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, 0,05н и 0,10н 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 жидкостный Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,0050 ед. адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа.

Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP-8, зернение 5 мкм, фирма Уотерс, или колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP-18, зернение 5 мкм, фирма Уотерс.

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 34104-80Е
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—82Е
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 25 мл	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—82Е

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—74Е

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, капусты, 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 и капусты замораживают и хранят при температуре – 18 °С. Непосредственно перед определением пробы корнеплодов сахарной свеклы и капусты 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 ацетонитриле.

Взвешивают 50 мг Карбофурана в мерной колбе на 50 мл, растворяют навеску в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом (стандартный раствор в ацетонитриле № 1 с концентрацией 1 мг/мл).

Стандартный раствор № 1 хранят в мерных колбах с притертыми пробками в холодильнике в течение 6 месяцев.

Методом последовательного разбавления готовят стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/мл (стандартный раствор в ацетонитриле № 2), который хранится в холодильнике в течение 30 дней в плотно закрытой посуде.

Стандартные растворы Карбофурана в ацетонитриле используют для построения градуировочного графика и внесения в воду, почву, корнеплоды и зеленую массу сахарной свеклы, капусту, 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 в гексане № 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 мерных колбах с притертыми пробками в холодильнике в течение 6 месяцев.

Методом последовательного разбавления готовят стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/мл (стандартный раствор в гексане № 4), который хранят в мерных колбах с притертыми пробками в холодильнике в течение 30 дней.

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 жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25 °С и скорости потока подвижной фазы 1,0 мл/мин в течение 3—4 часов.

2.4.3. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и деионизированную бидистиллированную воду.

2.4.3.1. Приготовление деионизированной бидистиллированной воды.

Бидистиллят из дистиллятора заливают в круглодонную колбу подходящего объема, кипятят в течение 6 ч с перманганатом калия, добавленным из расчета 1 г/л, и затем перегоняют.

2.4.3.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 400 мл ацетонитрила и 500 мл деионизированной бидистиллированной воды. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 мл/мин в течение 5 мин, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 мин. Полученный раствор используют в качестве подвижной фазы.

2.4.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика (площадь пика – концентрация Карбофурана в растворе) методом последовательного разбавления ацетонитрилом из стандартного раствора № 2 готовят градуировочные растворы с концентрациями 0,25; 0,50; 1,00; 2,50 и 5,00 мкг/мл. Вводят в хроматограф по 20 мкл из соответствующих градуировочных растворов.

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

2.4.5. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-Нитрил

2.4.5.1. 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, не нанося при этом никакого элюента. Затем промывают патрон 20 мл гексана. Элюат отбрасывают. После промывки патрона гексаном нельзя допускать высыхания его поверхности!

2.4.5.2. 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 2.4.5.1, наносят 4 мл стандартного раствора Карбофурана 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 до-

суха 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 ацетонитрила, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и вводят в хроматограф по 20 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 фаз нижний метиленхлоридный слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через безводный сульфат 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 4 мл ацетонитрила и вводят в хроматограф 20 мкл пробы.

В случае недостаточной чистоты анализируемых проб воды используют 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. К навеске почвы 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.

Затем в колбу добавляют 100 мл смеси ацетонитрил: 0,05 н соляная кислота 9 : 1 и перемешивают содержимое на механическом встряхивателе 30 мин.

Далее 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. Повторяют экстракцию из почвы еще 2 раза, используя каждый раз по 50 мл смеси ацетонитрил: 0,05 н соляная кислота и перемешивая содержимое колбы на механическом встряхивателе 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. После разделения фаз нижний водный слой отбрасывают. Верхний ацетонитрильный слой оставляют в делительной воронке.

К экстракту в делительной воронке прибавляют 40 мл гексана и интенсивно встряхивают 1 мин. 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 перемешивают. Содержимое концентратора переносят в чистую делительную воронку на 250 мл. В концентратор добавляют еще 20 мл гексана, помещают его 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 1 мин. После полного разделения фаз 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 еще 3 раза, используя по 50 мл раствора. Нижние водные слои фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 200—500 мл.

Переносят водный раствор из конической колбы в делительную воронку на 500 мл, куда добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают 1 мин. 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 растворителя. Нижние метиленхлоридые слои 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 картридж. Концентратор тщательно обмывают 10 мл гексана и также вносят на картридж. Элюат отбрасывают. Карбофуран элюируют с картриджа 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 ацетонитрила, и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.3. Корнеплоды сахарной свеклы

Образец 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 перемешивают содержимое колбы 15 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 делительную воронку добавляют приблизительно 3 г хлорида натрия, интенсивно встряхивают 1 мин. 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 1 мин. После полного разделения фаз 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 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.

Ацетонитрильный 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. В концентратор к ацетону 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. Смесь в воронке осторожно встряхивают 1 мин. После полного разделения фаз 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 из гексана 0,1 н раствором соляной кислоты еще 3 раза, используя по 50 мл раствора каждый раз. Нижние водные слои фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу на 250—500 мл. После завершающей экстракции гексановый слой отбрасывают.

Переносят раствор соляной кислоты из конической колбы в делительную воронку на 500 мл, куда добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают 1 мин. После разделения фаз 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 растворителя. Нижние метиленхлоридные слои 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. Капуста

Измельченный образец массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл. Прибавляют 40 мл ацетонитрила и помещают на 5 мин в ультразвуковую ванну. Затем смесь перемешивают 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 делительную воронку добавляют 5 г хлорида натрия, интенсивно встряхивают 1 мин. После разделения фаз нижний водный слой с остатками нерастворившегося хлорида натрия отбрасывают.

К оставшемуся в делительной воронке ацетонитрильному слою прибавляют 30 мл гексана и интенсивно встряхивают 1 мин. После полного разделения фаз 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 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.

Ацетонитрильный 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 1 мин в ультразвуковую ванну. В концентратор к ацетону 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. Осторожно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения фаз 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 соляной кислоты из конической колбы в делительную воронку на 500 мл, куда добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают 1 мин. После разделения фаз 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 из раствора соляной кислоты хлористым метиленом еще 3 раза, используя по 50 мл растворителя. Нижние метиленхлоридные слои 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.

2.5.5. 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 и 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 1 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл. Верхний гексановый слой отбрасывают. Ацетонитриль-

ный экстракт из химического стакана снова переносят в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки ацетонитрильного 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 слой безводного сульфата 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. Раствор переносят в делительную воронку на 250 мл. В концентратор добавляют еще 20 мл хлористого метилена. Концентратор помещают в ультразвуковую ванну на 30 с, тщательно обмывают стенки. Хлористый метилен из концентратора переносят в ту же делительную воронку.

Добавляют в делительную воронку 40 мл 0,05 н раствора соляной кислоты в деионизированной бидистиллированной воде. Интенсивно встряхивают 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 % раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты. После полного разделения фаз нижний метиленхлоридный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл. Скоагулировавшийся белок в химический стакан не собирают. Верхний слой с хлопьями белка отбрасывают. Делительную воронку ополоскивают небольшим количеством деионизированной бидистиллированной воды. Хлористый метилен из химического стакана снова переносят в делительную воронку. Повторяют процедуру промывки дихлорметана 0,05 н 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 %-ной фосфорно-вольфрамовую кислоту. После завершающей промывки нижний метиленхлоридный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», на который добавлено 5 г безводного сульфата натрия, в концентратор на 100 мл.

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, концентратор помещают на 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 образовалась суспензия, то ее разбивают, медленно помешивая содержимое делительной воронки стеклянной палочкой. При необходимости в делительную воронку при плавном перемешивании прибавляют 0,5 мл 40 % раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты. После полного разделения фаз 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 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 раствор соляной кислоты из конической колбы в делительную воронку на 500 мл, куда добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают 1 мин. После разделения фаз 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 из раствора соляной кислоты хлористым метиленом еще 3 раза, используя по 50 мл растворителя. Нижние метиленхлоридые слои 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.

2.5.6. Масло рапса (горчицы)

Образец масла массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 100 мл и добавляют 20 мл гексана. Растворяют масло, тщательно перемешивают. Масло, растворенное в гексане, 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. Гексан из колбы переносят в ту же делительную воронку.

К объединенным порциям гексана добавляют 30 мл ацетонитрила. Интенсивно встряхивают 1 мин. После разделения фаз нижний ацетонитрильный слой фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в концентратор на 250 мл. Верхний гексановый слой оставляют в делительной воронке. Повторяют процедуру экстракции Карбофурана из гексана ацетонитрилом еще 2 раза, используя по 30 мл ацетонитрила. Нижние ацетонитрильные слои фильтруют через бумажный фильтр и объединяют в концентраторе на 250 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. Растворяют масло, тщательно перемешивают. Масло, растворенное в гексане, переносят в делительную воронку на 250 мл. В концентратор добавляют еще 20 мл гексана, помещают его 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. Аккуратно встряхивают 1 мин. После полного разделения фаз нижний 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 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 раствор соляной кислоты из конической колбы в делительную воронку на 500 мл, куда добавляют 50 мл хлористого метилена. Интенсивно встряхивают 1 мин. После разделения фаз 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 растворителя. Нижние метиленхлоридые слои 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.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

Хроматограф «Waters» или другой с аналогичными характеристиками с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны.

Колонка стальная Symmetry Shield RP-8, 4,6 мм х 25 см, зернением 5 мкм или альтернативная колонка Symmetry Shield RP-18, стальная, 4,6 мм х 25 см, зернением 5 мкм.

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил: деионизированная бидистиллированная вода в соотношении 40 : 50 (по объему), скорость потока 1 мл/мин.

Рабочая длина волны детектора 210 нм.

Чувствительность 0,005 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 мкл.

Время удерживания для колонки Symmetry Shield RP-8—7,75—7,90 мин; для колонки Symmetry Shield RP-18—7,95—8,10 мин.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Содержание Карбофурана 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;

$S_{ст}$ – площадь (высота) пика стандарта, мм;

$S_{пр}$ – площадь (высота) пика образца, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m – масса анализируемого образца, г;

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 при-

готовлению стандартных растворов необходимо проводить в вытяжном шкафу. Персонал лаборатории должен быть обучен правилам безопасности.

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