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 Тифенсульфурон-метила в воде, бобах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1435—03

1. Вводная часть

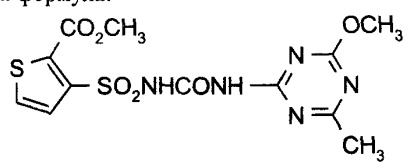
Фирма-производитель: Дюпон де Немур.

Торговое название: Хармони.

Название действующего вещества по ИСО: Тифенсульфурон-метил.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Метиловый эфир 3-[[[[(4-метокси-6-метил-1,3,5-триазин-2-ил)амино]карбонил]амиино] сульфонил)-2-тиофенкарбоновой кислоты.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{13}N_5O_6S_2$.

Молекулярная масса: 387,4.

Химически чистый Тифенсульфурон-метил представляет собой белый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления: 176 °С.

Давление паров $1,7 \times 10^{-5}$ мПа (при 25 °С).

Коэффициент распределения октанол–вода K_{ow} logP = 0,20 (pH 5), 0,02 (pH 7).

gost.e-ecolog.ru

Растворимость в воде (мг/л, 25 °С): 230 (pH 5), 6270 (pH 7).

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С): гексан < 0,1, ксилол – 0,2, этанол – 0,9, метанол, этилацетат – 2,6, ацетонитрил – 7,3, ацетон – 11,9, хлористый метилен – 27,5.

Константа диссоциации pKa (при 25 °С) – 4,0.

Стабилен при температуре 55 °С. Гидролизуется при температуре 45 °С DT_{50} 4,7 ч (pH 3), 38 ч (pH 5), 250 ч (pH 7), 11 ч (pH 9).

Устойчивость в почве DT_{50} – 6—12 дней на солнечном свете (14 дней – в темноте)); DT_{50} – (30 °С, pH 8) – несколько часов. Подвергается микробиологической деградации и химическому гидролизу, в результате чего образуются неактивные метаболиты.

В растениях разлагается в течение нескольких дней, в устойчивых растениях полностью гидролизуется за 24 ч. В пшенице DT_{50} составляет 3—4 ч, в соевых бобах – 5—6 ч.

В организме теплокровных разлагается слабо, 70—75 % выделяется в неизменном виде с мочой и фекалиями. Механизм первичной деградации включает гидролиз метоксикарбонильной группы, О-деметилирование гетероциклического кольца и гидролиз сульфонилмочевинной группы.

Краткая токсикологическая характеристика. Тифенсульфурон-метил относится к малоопасным соединениям по острой оральной ($ЛД_{50}$ для крыс составляет более 5 000 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов более 2 000 мг/кг) токсичности и умеренно опасным веществам по ингаляционной ($ЛК_{50}$ для крыс (4 ч) более 7,9 мг/л) токсичности. Не вызывает покраснения кожи, слабо раздражает слизистую оболочку глаз. Не проявляет тератогенных и мутагенных свойств.

В России установлены следующие гигиенические нормативы для Тифенсульфурон-метила:

ДСД – 0,01 мг/кг массы тела человека;

ПДК в воде водоема – 0,01 мг/л;

ОДК в почве – 0,07 мг/кг;

МДУ (мг/кг): зерно хлебных злаков – 0,5;

семена и масло льна – 0,5;

семена и масло сои – 0,02;

зерно кукурузы – 0,02.

Область применения препарата. Тифенсульфурон-метил – гербицид системного действия, проникающий через корни и листья растений и ингибирующий биосинтез изолейцина и валина. Рекомендуется для применения на посевах яровых и озимых зерновых культур (пшеница,

ячмень, рожь, овес, тритикале), сои и кукурузы. Хорошо подавляет развитие широколистных сорняков, используется для послевсходовой обработки с нормой расхода 9—60 г д.в./га. Обычно используется в комбинации с Метсульфурон-метилом.

В России зарегистрирован под торговым названием Хармони, СТС, 750 г/кг, для борьбы с однолетними двудольными сорняками, в том числе устойчивыми к 2,4-Д, МЦПА и триазинам видами, в посевах пшеницы, ячменя, кукурузы, льна-долгунца и сои с нормой расхода 6—25 г/га в зависимости от культуры.

2. Методика определения остаточных количеств Тифенсульфурон-метила в воде, бобах и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Тифенсульфурон-метила методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта путем перераспределения между двумя несмешивающимися органическими растворителями и на концентрирующих патронах на основе силикагеля (Диапак-Амин и Диапак-С). Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Метрологическая характеристика метода

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $p = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения, мг/кг (мг/л)	диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/л)	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S	доверительный интервал среднего результата, %, ±
Вода	0,005	0,005	88,0	2,75	3,42
Бобы сои	0,01	0,01—0,10	74,8	1,06	1,32
Масло сои	0,02	0,02—0,20	77,2	1,66	2,07

Таблица 2

Полнота определения Тифенсульфурон-метила в воде, бобах и масле сои (5 повторностей для каждой концентрации)

Среда	Внесено Тифенсульфурон-метила, мг/кг (мг/л)	Обнаружено, мг/кг (мг/л)	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
Вода	0,005	0,0044	0,0002	88
Бобы сои	0,01	0,0076	0,0001	76
	0,02	0,0148	0,0005	74
	0,05	0,0368	0,0007	73,6
	0,10	0,0754	0,0016	75,4
среднее				74,8
Масло сои	0,02	0,0155	0,0004	77,5
	0,04	0,0307	0,0009	76,8
	0,10	0,0777	0,0034	77,7
	0,20	0,1536	0,0028	76,8
среднее				77,2

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании сои.

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Тифенсульфурон-метил, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,6 %, фирма Дюпон
Ацетонитрил ТУ 6-09-3534—87
Вода бидистиллированная, деионизированная ГОСТ 7602—72
Гексан, ч ТУ 6-09-3375
Гелий, осч
Калий марганцово-кислый, чда ГОСТ 20490—75
Кислота ортофосфорная, хч ГОСТ 6552—80
Кислота уксусная, ледяная ГОСТ 61—75
Концентрирующие патроны Диапак-Амин (0,6 г) ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны Диапак-С (0,6 г) ТУ 4215-002-05451931—94
Магния сульфат, $MgSO_4 \times 7\ H_2O$ ГОСТ 4523—67
Натрий серно-кислый, безводный, хч ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч ГОСТ 4233—77

Подвижная фаза для ВЭЖХ: ацетонитрил – 300 мл, 0,1 %-ный водный раствор ортофосфорной кислоты – 600 мл	
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ-6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс	
Хлороформ, ч	ГОСТ 20015—74
Этиловый эфир уксусной кислоты	ГОСТ 223000—76

2.2.2. Приборы и оборудование

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами, Диапак-Амин и Диапак-С	
Ванна ультразвуковая	
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 250 и 500 мл	ГОСТ 25336—82Е
Воронки конические стеклянные, диаметром 50—60 мм	ГОСТ 25336—82Е
Встряхиватель механический или аналогичный	ТУ 64-673М
Колбы конические, плоскодонные на 250 и 500 мл	ГОСТ 9737—70
Колбы мерные на 25, 50 и 100 мл	ГОСТ 1770—74
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Spherisorb ODS, зернение 5 мкм	
Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 50, 100 и 250 мл КТУ-100-14/19	ГОСТ 10394—75
Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50—100 мкл	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696—75
Пипетки мерные на 0,2; 1,0; 2,0; и 5,0 мл	ГОСТ 20292—74
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или аналогичный	ТУ 25-11-917—74
Стаканы стеклянные на 100—500 мл	ГОСТ 25366—80Е
Хроматограф жидкостный Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже	

0,005 единиц адсорбции на шкалу
или другой аналогичного типа

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Колонку Spherisorb ODS устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25 °С и скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин в течение 3—4 ч.

2.3.2. Подготовка растворителей

Перед началом эксперимента проверяют чистоту ацетона, гексана, этилацетата и хлороформа. Для этого досуха упаривают на ротационном вакуумном испарителе 100 мл растворителя, добавляют в концентратор 2 мл ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют при 230 нм. При недостаточной чистоте растворителей проводят их очистку.

Гексан встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают бледно-розовым раствором марганцово-кислого калия до тех пор, пока раствор не перестанет обесцвечиваться, затем промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М., 1976. С. 441).

Хлороформ встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М., 1976. С. 443).

Этиловый эфир уксусной кислоты промывают равным объемом 5 %-ного раствора соды, сушат над безводным хлористым кальцием (Беккер Г. и др. Органикум. М., 1979. С. 372), кипятят в течение 1 ч с прокаленным сульфатом магния и затем перегоняют.

Бидистиллят кипятят в течение 6 ч с марганцово-кислым калием, добавленным из расчета 1 г/л и затем перегоняют.

Магний серно-кислый 7-водный прокаливают в течение 5 ч (до полного испарения воды).

2.3.3. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают 100 мг Тифенсульфурон-метила в мерной колбе объемом 100 мл. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом (стандартный раствор с концентрацией Тифенсульфурон-метила 1,0 мг/мл). Затем 10,0 мл стандартного раствора с концентрацией 1,0 мг/мл отбирают пипеткой в мерную колбу объемом 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании

(стандартный раствор с концентрацией Тифенсульфурон-метила 100,0 мкг/мл). Стандартные растворы можно хранить в холодильнике в течение месяца. Для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы каждый день из стандартного раствора с концентрацией 100 мкг/мл методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 5,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/мл Тифенсульфурон-метила. Для внесения в образцы соевого масла при отработке метода из стандартного раствора с концентрацией 100 мкг/мл (в ацетонитриле) методом последовательного разведения этилацетатом готовят растворы, содержащие по 2,0; 1,0; 0,5; 0,2 мкг/мл Тифенсульфурон-метила.

2.3.4. Приготовление растворов для проведения анализа

2.3.4.1. Приготовление 0,1 %-ного раствора уксусной кислоты в этилацетате.

В мерную колбу объемом 100 мл помещают 50 мл этилацетата и туда же добавляют 0,1 мл ледяной уксусной кислоты и доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивая. Раствор используют для элюирования Тифенсульфурон-метила с картриджа Диапак С.

2.3.4.2. Приготовление 2 %-ного раствора уксусной кислоты в этилацетате.

В мерную колбу объемом 100 мл помещают 50 мл этилацетата и туда же добавляют 2,0 мл ледяной уксусной кислоты и доводят до метки этилацетатом, тщательно перемешивая. Раствор используют для элюирования Тифенсульфурон-метила с картриджа Диапак-Амин.

2.3.5. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

2.3.5.1. Приготовление 0,1 %-ного раствора ортофосфорной кислоты.

В мерную колбу объемом 1 000 мл наливают 500 мл очищенной воды, добавляют туда 1 мл концентрированной ортофосфорной кислоты, перемешивают, доводят до метки очищенной водой и тщательно перемешивают.

2.3.5.2. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 300 мл ацетонитрила и 600 мл 0,1 %-ного раствора ортофосфорной кислоты. 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.

2.3.6. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика вводят в хроматограф последовательно 3 раза по 20 мкл каждого из стандартных растворов, содержащих Тифенсульфурон-метил с концентрациями 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/мл, измеряют площадь пиков, рассчитывают среднее значение площади пика для каждой концентрации и строят график зависимости площади пика от концентрации Тифенсульфурон-метила.

2.3.7. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-Амин (0,6 г) для очистки экстракта

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

Патрон Диапак-Амин устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 мл (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают 10 мл этилацетата. Элюат отбрасывают. *Нельзя допускать высыхания поверхности картриджа!*

2.3.7.1. Проверка хроматографического поведения Тифенсульфурон-метила на концентрирующем патроне Диапак-Амин

Из стандартного раствора Тифенсульфурон-метила в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/мл отбирают 2 мл, помещают в круглодонную колбу объемом 100 мл и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 5 мл этилацетата, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и полученный раствор вносят на картридж. Затем в концентратор добавляют 5 мл этилацетата, обмывают стенки концентратора и полученный раствор также вносят на картридж. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют. Концентратор тщательно обмывают 10 мл 0,1 %-ной уксусной кислоты в этилацетате и смесь также вносят на картридж. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют.

Тифенсульфурон-метил элюируют с картриджа 10 мл 2 %-ной уксусной кислоты в этилацетате порциями по 5 мл, элюат после внесения каждой порции упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Остатки уксусной кислоты отдувают

холодным воздухом. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Тифенсульфурон-метил, объединяют их и высчитывают полноту снятия вещества с колонки.

2.3.8. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-С (0,6 г) для очистки экстракта

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

Патрон Диапак-С устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 мл (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают последовательно 5 мл этилацетата и 5 мл смеси гексан–этилацетат в соотношении 8 : 2. Элюат отбрасывают. *Нельзя допускать высыхания поверхности картриджа!*

2.3.8.1. Проверка хроматографического поведения Тифенсульфурон-метила на концентрирующем патроне Диапак-С.

Из стандартного раствора Тифенсульфурон-метила в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/мл, отбирают 1 мл, помещают в круглодонную колбу объемом 100 мл и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 8 мл гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на картридж. Концентратор тщательно обмывают 5 мл смеси гексан–этилацетат в соотношении 4 : 1 и смесь также вносят на картридж. Элюат собирают в концентратор, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют.

Картридж высушивают под вакуумом в течение 2 мин. Тифенсульфурон-метил элюируют с картриджа 10 мл 0,1 %-ной уксусной кислоты в этилацетате порциями по 5 мл, элюат после внесения каждой порции упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Остатки уксусной кислоты отдувают холодным воздухом. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Тифенсуль-

фурон-метил, объединяют их и высчитывают полноту снятия вещества с колонки.

Пробу, подвергшуюся растворению, следует проанализировать достаточно быстро, так как Тифенсульфурон-метил довольно быстро разлагается и с течением времени его концентрация в анализируемом растворе уменьшается.

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). Отобранные пробы бобов сои подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при комнатной температуре.

2.5. Описание определения

2.5.1. Вода

Пробу воды объемом 200 мл помещают в химический стакан емкостью 250 мл, доводят pH до значения 3,5 с помощью потенциометра и переносят в делительную воронку объемом 500 мл. Туда же добавляют 20 г сухого хлористого натрия и перемешивают до полного растворения соли. К раствору в делительной воронке добавляют 100 мл хлороформа и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой (хлороформ) собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия.

Тифенсульфурон-метил экстрагируют еще два раза хлороформом порциями по 50 мл, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. Каждый раз после разделения фаз в воронке нижний слой (хлороформ) собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток после упаривания растворяют в 2 мл смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 2 и аликвоту объемом 20 мкл хроматографируют.

2.5.2. Бобы сои

2.5.2.1. Экстракция и первичная очистка.

Образец размолотых бобов массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл этилацетата и экстрагируют на ультразвуковой ванне в течение 5 мин и дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракцию повторяют еще два раза, используя по 50 мл этилацетата и экстрагируя на ультразвуковой ванне 5 мин и

дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракты объединяют, фильтруют в концентратор объемом 250 мл через фильтр «красная лента» и упаривают до маслянистого остатка при температуре не выше 30 °С.

К маслянистому остатку в концентраторе добавляют 20 мл гексана, тщательно обмывают стенки концентратора и раствор переносят в сухую делительную воронку. Затем концентратор обмывают еще двумя порциями гексана по 20 и 10 мл и объединяют все смывы в делительной воронке. К объединенному экстракту в делительной воронке добавляют 20 мл ацетонитрила и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 250 мл, пропуская через слой безводного сульфата натрия толщиной ~ 1 см. Экстракцию повторяют еще двумя порциями ацетонитрила по 20 мл, экстракты объединяют и выпаривают досуха при температуре не выше 30 °С.

2.5.2.2. Очистка экстракта.

2.5.2.3. Очистка на концентрирующих патронах.

Сухой остаток растворяют в 5 мл этилацетата, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну тщательно обмывают стенки концентратора и полученный раствор вносят на картридж. Затем в концентратор добавляют 5 мл этилацетата, обмывают стенки концентратора и полученный раствор вносят на подготовленный картридж Диапак-Амин. Концентратор тщательно обмывают 10 мл 0,1 %-ной уксусной кислоты в этилацетате и смесь также вносят на картридж. Элюат отбрасывают. Тифенсульфурон-метил элюируют с картриджа 10 мл 2 %-ной уксусной кислоты в этилацетате, элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 8 мл гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на картридж Диапак-С. Концентратор тщательно обмывают 5 мл смеси гексан–этилацетат в соотношении 4 : 1 и смесь также вносят на картридж. Элюат отбрасывают. Картридж высушивают под вакуумом в течение 2 мин. Тифенсульфурон-метил элюируют с картриджа 10 мл 0,1 %-ной уксусной кислоты в этилацетате, элюат упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 мл смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 2 и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.3. Масло сои

Образец масла массой 10 г помещают в химический стакан объемом 100 мл, прибавляют 30 мл гексана, тщательно перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 мл. Стакан обмывают еще два раза гексаном порциями по 30 мл и переносят в ту же делительную воронку. К объединенному гексановому экстракту в делительной воронке добавляют 30 мл ацетонитрила и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в химический стакан объемом 150—200 мл. Экстракцию повторяют еще двумя порциями ацетонитрила по 30 мл, экстракты объединяют и возвращают в ту же делительную воронку.

К объединенному ацетонитрильному экстракту в делительной воронке прибавляют 100 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 250 мл, пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха при температуре не выше 30 °С. Верхний гексановый слой отбрасывают. Сухой остаток очищают последовательно на концентрирующих патронах Диапак-Амин и Диапак-С, как указано в п. 2.5.2.3. После очистки элюат упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 2 мл смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 2 и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

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 Spherisorb ODS, 4,6 мм × 25 см, зернением 5 мкм.

Предколонка Symmetry Shield RP 18, 4,6 мм × 2 см, зернением 5 мкм.

Время выхода Тифенсульфурон-метила 9,24—9,81 мин.

Альтернативная колонка Symmetry Shield RP 18, 4,6 мм × 25 см, зернением 5 мкм.

Время выхода Тифенсульфурон-метила	12,91—13,73 мин.
Температура колонки	25 °С.
Подвижная фаза	ацетонитрил – 0,1 %-ная ортофосфорная кислота в соотношении 1 : 2.
Чувствительность	*0,005 ед. оптической* плотности на шкалу.
Объем вводимой пробы	20 мкл.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

После каждой инъекции следует промыть колонку в течение 10—15 мин потоком подвижной фазы при скорости потока 1 мл/мин.

2.9.2. Обработка результатов анализа

Содержание Тифенсульфурон-метила рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Тифенсульфурон-метила в пробе, мг/кг или мг/л;

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

P – содержание Тифенсульфурон-метила в аналитическом стандарте, %.

3. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами.

4. Разработчики

Калинин В. А., проф., к. с-х. н.; Довгилевич Е. В., к. биол. н.; Калинина Т. С., к. с-х. н.; Довгилевич А. В., к. хим. н.; Устименко Н. В., к. биол. н.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева.

Учебно-научный консультационный центр «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 53/1. Телефон: (095) 976-37-68, факс: (095) 976- 43-26.

gost.e-ecolog.ru