Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 1
МУК 4.1.1426—4.1.1429—03

Издание официальное

Минздрав России
Москва • 2004

gost.e-ecolog.ru

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 1
МУК 4.1.1426—4.1.1429—03

ББК 51.23+51.21
О60
О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.—Вып. 4.—Ч. 1.—64 с.

ISBN 5—7508—0527—1

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (чл.-корр. РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева (проф. В. А. Калинин, к. хим. н. Довгилевич А. В.); при участии Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России (А. П. Веселов). Разработчики методик указаны в конце каждой из них.

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по госсанэпиднормированию при Минздраве России.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23+51.21

Редакторы Барабанова Т. Л., Максакова Е. И.
Технический редактор Ломанова Е. В.

Подписано в печать 22.04.04

Формат 60x88/16 Печ. л. 4,0
Тираж 3000 экз. Заказ 37

Министерство здравоохранения Российской Федерации
101431, Москва, Рахмановский пер., д. 3

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован Издательским отделом
Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России
125167, Москва, проезд Аэропорта, 11.
Отделение реализации, тел. 198-61-01

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

Содержание

Определение остаточных количеств Беномила по Карбендазиму и Карбендазима в воде, почве, семенах рапса (горчицы) и подсолнечника, клубнях картофеля, корнеплодах сахарной свеклы, яблоках, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1426—03 4

Определение остаточных количеств Бенсултапа в воде, почве, клубнях картофеля, зерне и соломе зерновых колосовых культур, томатах и баклажанах методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1427—03 23

Измерение концентраций Десмедифама в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1428—03 43

Определение остаточных количеств Десмедифама в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной, столовой и кормовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1429—03 50

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 Десмедифама в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной, столовой и кормовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1429—03

1. Вводная часть

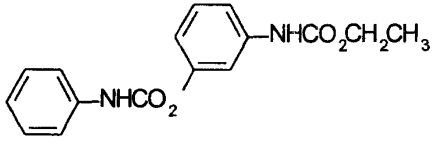
Фирма производитель: Авентис КропСайенс.

Торговое название: Бетанал АМ, Бетана Прогресс Ам.

Название действующего вещества по ИСО: Десмедифам.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Этил-3-фенилкарбамоилоксифенилкарбамат; этил-3-фенилкарбамоилоксикарбанилат; 3-этоксикарбониламинофенил фенилкарбамат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{16}N_2O_4$.

Молекулярная масса: 300,3.

Химически чистый Десмедифам представляет собой белый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления: 120 °С

Давление паров $4,0 \times 10^{-5}$ мПа (при 25 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода K_{ow} lg P - 3,39 (pH 5,9).

Растворимость в воде – 7 мг/л (при 20 °С).

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С): ацетон – 400,0; метанол – 180,0; толуол – 4,2; этилацетат – 149,0; хлороформ – 80,0; дихлорэтан – 17,8; бензол – 1,6; толуол – 1,2; гексан – 0,5.

Стабилен в течение 2 лет при 70 °С. Стабилен в кислой водной среде, гидролизуется в нейтральной и щелочной средах. Время полуразложения в водном растворе при pH 3,8 на свету составляет 224 часа. Гидролизуется наполовину при pH 5 – 70 дней, при pH 7 – 20 часов, при pH 9—10 мин.

Десмедифам относительно быстро разлагается в почве ($ДТ_{50}$ – 34 дня) с образованием этил 3-гидроксикарбоната, который подвергается дальнейшей деградации. Десмедифам слабо передвигается в почве и не попадает в грунтовые воды. В сахарной свекле основным метаболитом Десмедифама является этил *N*-(3-гидроксифенил)карбамат, который затем превращается в *m*-аминофенол.

Краткая токсикологическая характеристика

Десмедифам относится к малоопасным соединениям по оральной ($ЛД_{50}$ для крыс более 10 250 мг/кг, для мышей – более 5 000 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов более 4 000 мг/кг) токсичности и умеренно опасным по ингаляционной ($ЛК_{50}$ для крыс – 4 часа – более 7,4 мг/л) токсичности.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД (мг/кг/сут.) – 0,025;

ПДК в воде водоемов (мг/л) – 0,05;

ПДК в почве (мг/кг) – 0,25;

ПДК в воздухе рабочей зоны ($мг/м^3$) – 1,0;

ВМДУ в столовой свекле (мг/кг) – 0,1.

Область применения препарата

Десмедифам – узко избирательный системный гербицид, проникающий в растения через листья и подавляющий процесс передачи электронов при фотосинтезе. Подавляет развитие широколистных сорняков, включая щирицу запрокинутую, в посевах свеклы. Особенно эффективен в стадии проростков сорных растений. Его действие не зависит от типа почвы и влажности. Используется, в основном, как компонент смесей с Фенмедифамом и Этофумезатом.

В России и странах СНГ зарегистрированы препараты: Бетанал С, Бетанал АМ 11, Бетанал Прогресс АМ и Бетанал Прогресс ОФ. в качестве гербицидов в посевах сахарной и кормовой свеклы с нормой расхода 1—6 л/га по препарату (70—480 г Десмедифама на га) при однотрехкратной обработках в фазу от 2 настоящих листьев культуры.

2. Методика определения остаточных количеств Десмедифама в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной, столовой и кормовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Десмедифама методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистки экстракта путем перераспределения между двумя несмешивающимися фазами и на концентрирующих патронах Диапак-C_8, Диапак-С. Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метод

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	0,025	0,02—0,20	88,6	3,84	1,79
почва	0,01	0,01—1,00	81,4	1,81	0,85
корнеплоды сахарной, столовой и кормовой свеклы	0,05	0,05—0,50	74,3	1,39	0,65
зеленая масса сахарной, столовой и кормовой свеклы	0,05	0,05—0,50	79,5	3,83	1,79

Таблица 2

Полнота определения Десмедифама в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной, столовой и кормовой свеклы (5 повторностей для каждой концентрации)

Среда	Внесено, мг/кг (мг/л)	Обнаружено, мг/кг (мг/л)	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
Вода	0,02	0,018	0,001	90
	0,04	0,037	0,0011	92,5
	0,10	0,088	0,0024	88
	0,20	0,174	0,0034	87
среднее				88,6
Почва	0,10	0,081	0,0014	81
	0,20	0,165	0,0014	82,5
	0,50	0,415	0,0079	83
	1,00	0,790	0,0062	79
среднее				81,4
Корнеплоды сахарной, столовой и кормовой свеклы	0,05	0,037	0,0008	74
	0,10	0,074	0,0007	74
	0,20	0,148	0,0049	74
	0,50	0,376	0,0036	75,2
среднее				74,3
Зеленая масса сахарной, столовой и кормовой свеклы	0,05	0,040	0,0014	80
	0,10	0,074	0,0019	74
	0,20	0,164	0,0016	82
	0,50	0,410	0,0094	82
среднее				79,5

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях м д специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращ нии сахарной, столовой и кормовой свеклы.

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Десмедифам, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,8 %, фирма Авентис	
Ацетонитрил	ТУ 6-09-3534—87
Вода бидистиллированная*, деионизированная	ГОСТ 7602—72
Гексан, ч	ТУ 6-09-3375
Гелий, очищенный марки «А»	ТУ 51-940—80
Калий марганцово-кислый, чда	ГОСТ 20490—75
Магния сульфат, $MgSO_4 \times 7H_2O$	ГОСТ 4523-67
Метилен хлористый, хч	ТУ 6-09-2662—77
Натрий бикарбонат, хч	ГОСТ 4201—79
Натрий сернокислый, безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Кислота ортофосфорная, хч	ГОСТ 6552—80
Кислота соляная, концентрированная	ГОСТ 857—88
Оксид(V) фосфора, P_2O_5, чда	ТУ 6-09-4173
Хлороформ, ч	ГОСТ 20015—88
Этиловый эфир уксусной кислоты	ГОСТ 223000—76
Подвижная фаза для ВЭЖХ: ацетонитрил – 450 мл, вода* – 500 мл	
Концентрирующие патроны Диапак-С (0,6 г)	ТУ 4215-002-05451931—94
Концентрирующие патроны Диапак-C_8 (0,6 г)	ТУ 4215-002-05451931—94
Фильтры бумажные, «красная лента»	ТУ 6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс	

Перед началом эксперимента проверяют чистоту гексана, этилацетата и хлористого метилена. Для этого досуха упаривают на ротационном вакуумном испарителе 100 мл растворителя, добавляют в концентратор 2 мл ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют при 235 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. 441 с.).

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

Хлористый метилен встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают водным раствором карбоната натрия, водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют над оксидом (V) фосфора (Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М., 1976. 440 с.).

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

2.2.2. Приборы и оборудование

Жидкостный хроматограф Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа	
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Zorbax SB-C18, зернение 5 мкм, фирма Rockland Technologies, Inc.	
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
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; 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

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами Диапак-C_8 и Диапак-С

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Колонку Zorbax SB-C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25 °С и скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин в течение 3—4 часов.

2.3.2. Приготовление растворов для проведения анализа

2.3.2.1. Приготовление 2 н раствора ортофосфорной кислоты.

В мерную колбу объемом 100 мл наливают 50 мл очищенной воды, добавляют 13,8 мл концентрированной ортофосфорной кислоты, перемешивают, доводят до метки очищенной водой и тщательно перемешивают.

2.3.2.2. Приготовление фазы для растворения образцов и последовательного разведения стандартных растворов.

В колбу объемом 100 мл помещают 50 мл ацетонитрила, добавляют 50 мл очищенной воды и 2 капли 2 н ортофосфорной кислоты, тщательно перемешивают. Фазу используют для растворения стандартов, образцов и последовательного разведения стандартных растворов.

2.3.2.3. Приготовление стандартных растворов.

Взвешивают 10 мг Десмедифама в мерной колбе объемом 100 мл. Навеску растворяют в 100 мл смеси растворителей для растворения стандартов (ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1 с добавлением 2 капель 2 н ортофосфорной кислоты на 100 мл смеси) (стандартный раствор с концентрацией Десмедифама 100 мг/мл). Затем 10,0 мл стандартного раствора с концентрацией 100,0 мкг/мл отбирают пипеткой в мерную колбу объемом 100 мл и доводят объем до метки смесью растворителей для растворения стандартов при перемешивании (стандартный раствор с концентрацией Десмедифама 10,0 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 Десмедифама и используют эти растворы для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы. Стандартные растворы можно хранить в холодильнике в течение трех месяцев.

2.3.3. Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 450 мл ацетонитрила и 500 мл очищенной 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.

2.3.4. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика вводят в хроматограф последовательно 3 раза по 20 мкл каждого из стандартных растворов, содержащих Десмедифам 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 Десмедифама.*

2.3.5. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-C_8 (0,6 г) для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 2 мл/мин.

2.3.5.1. Кондиционирование патрона.

Патрон Диапак-C_8 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 смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1 и 10 мл воды. Элюат отбрасывают. ***Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!***

2.3.5.2. Проверка хроматографического поведения Десмедифама на концентрирующем патроне Диапак-C_8.

Из стандартного раствора Десмедифама, 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 ацетонитрила, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 8 мл воды, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор наносят на патрон. Концентратор тщательно обмывают 10 мл смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 4 и смесь также вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, упаривают

досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл смеси для растворения образцов, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют для проверки наличия в нем Десмедифама (анализируемое вещество должно остаться в колонке).

Десмедифам элюируют с патрона 15 мл смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1 порциями по 5 мл. Элюат после внесения каждой порции упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 2 мл смеси для растворения образцов, помещают на 30 с в ультразвуковую ванну, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие Десмедифам, и объединяют их.

На основе полученных данных рассчитывают полноту снятия Десмедифама с патрона и количество элюата, необходимое для элюирования анализируемого вещества.

2.3.6. 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 2 мл/мин.

2.3.6.1. Кондиционирование патрона.

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 10 мл смеси гексан–этилацетат в соотношении 1 : 1 и 10 мл смеси гексана. Элюат отбрасывают. ***Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!***

2.3.6.2. Проверка хроматографического поведения Десмедифама на концентрирующем патроне Диапак-С.

Из стандартного раствора Десмедифама, 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 патрон. Элюат собирают в концентратор объемом 100 мл, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл смеси для растворения и хроматографируют. Продолжают элюирование Десмедифама двумя порциями по 5 мл смеси гексан–этилацетат в соотношении 8 : 2. Элюат после внесения каждой порции растворителей собирают в концентратор, упаривают досуха,

сухой остаток растворяют в 2 мл смеси для растворения образцов и хроматографируют.

На основе полученных данных рассчитывают полноту снятия Десмедифама с патрона и количество элюата, необходимое для элюирования анализируемого вещества.

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). 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, столовой и кормовой свеклы замораживают и хранят при температуре –18 °С. Непосредственно перед определением пробы корнеплодов измельчают на терке. Пробы зеленой массы свеклы измельчают ножницами.

2.5. Описание определения

2.5.1. Вода

2.5.1.1. Экстракция.

Пробу воды объемом 200 мл фильтруют через фильтр «красная лента» в делительную воронку емкостью 500 мл, добавляют 50 мл хлористого метилена и интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой хлористого метилена собирают в концентратор, пропуская экстракт через безводный сульфат натрия. Экстракцию Десмедифама хлористым метиленом повторяют еще 2 раза порциями по 50 мл, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. Каждый раз после разделения фаз в воронке нижний слой (хлористый метилен) собирают в концентратор, пропуская экстракт через безводный сульфат натрия. Осушитель обмывают 10 мл хлористого метилена и смыв объединяют с основным экстрактом. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток после упаривания растворяют в 10 мл ацетонитрила. Из полученного раствора отбирают аликвоту объемом 2 мл (что соответствует 40 мл анализируемой пробы) в колбу, добавляют 8 мл воды и наносят на патрон Диапак-$С_8$.

2..5.1.2. Очистка экстракта на патроне Диапак-$С_8$.

Пропускают раствор через патрон со скоростью не более 2 мл/мин. Элюат отбрасывают. Концентратор тщательно обмывают 10 мл смеси

ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 4 и смесь также вносят на патрон. Элюат также отбрасывают. Десмедифам элюируют с патрона 10-ю мл смеси ацетонитрил–вода в соотношении 1 : 1. Элюат собирают в концентратор и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Сухой остаток растворяют в 8 мл смеси для растворения образцов и аликвоту объемом 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.2. Почва

2.5.2.1. Экстракция и предварительная очистка.

Образец почвы массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл. Прибавляют 10 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивают до полного смешивания и выдерживают 10 мин при комнатной температуре. Затем добавляют 50 мл ацетонитрила и экстрагируют Десмедифам в течение 10 мин на ультразвуковой ванне. Колбу дополнительно встряхивают в течение 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракт переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 500 об./мин. 5 мин. Супернатант фильтруют в концентратор объемом 250 мл через фильтр «красная лента».

Экстракцию повторяют еще два раза, добавляя каждый раз по 50 мл смеси ацетонитрил–0,1 н соляная кислота в соотношении 9 : 1, выдерживая по 10 мин на ультразвуковой ванне и встряхивая дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. После центрифугирования экстракт фильтруют через бумажный фильтр «красная лента» в тот же концентратор.

К объединенному экстракту в концентраторе добавляют 5 мл дистиллированной воды и упаривают экстракт на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка. К водному остатку добавляют 5 мл смеси для растворения образцов и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в тот же концентратор добавляют 50 мл воды, 20 мл насыщенного раствора поваренной соли, содержимое концентратора перемешивают и переносят в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор обмывают 30 мл хлористого метилена, растворитель переносят в ту же делительную воронку и воронку интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой хлористого метилена собирают в концентратор через слой безводного сульфата натрия.

Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя по 30 мл хлористого метилена и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. Экстракты (нижний слой) объединяют в концентраторе, осушитель обмывают 10 мл хлористого метилена, объединяют с основным экстрактом и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют в концентратор 50 мл гексана, перемешивают и переносят содержимое концентратора в *сухую(!)* делительную воронку. Туда же добавляют 20 мл ацетонитрила и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 100 мл. Экстракцию ацетонитрилом повторяют еще 2 раза порциями по 20 мл. Ацетонитрильные экстракты объединяют и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

2.5.2.2. Очистка экстракта на патронах.

Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила (*помещают на 30 с* в ультразвуковую ванну), тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 8 мл очищенной воды, перемешивают и очищают на концентрирующем патроне Диапак-C_8, как указано в п. 2.5.1.2.

После очистки элюат упаривают досуха. 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 патрон. Концентратор тщательно обмывают 5 мл смеси гексан–этилацетат в соотношении 8 : 2 и смесь также вносят на патрон. Элюат собирают и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 5—10 мл смеси для растворения образцов и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.3. Корнеплоды сахарной, столовой и кормовой свеклы

Образец измельченных корнеплодов массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют последовательно 0,1 мл концентрированной соляной кислоты, 50 мл этилацетата и экстрагируют Десмедифам в течение 10 мин на ультразвуковой ванне. Колбу дополнительно встряхивают в течение 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракт фильтруют в концентратор через бумажный фильтр «красная лента».

Экстракцию повторяют еще два раза, добавляя каждый раз по 50 мл ацетонитрила, выдерживая по 10 мин на ультразвуковой ванне и встряхивая дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракты фильтруют и объединяют в концентраторе, добавляют 5 мл дистиллированной воды и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка.

К водному остатку добавляют 5 мл смеси для растворения образцов и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в тот же концентра-

тор добавляют 30 мл воды, 10 мл насыщенного раствора поваренной соли, перемешивают содержимое и переносят его из концентратора в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор обмывают 30 мл хлористого метилена, помещают его в ту же делительную воронку и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой хлористого метилена собирают в концентратор через слой безводного сульфата натрия.

Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя по 30 мл хлористого метилена и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. В случае образования эмульсии при третьей экстракции хлористым метиленом, к содержимому делительной воронки необходимо добавить 100 мл дистиллированной воды, перемешать (не встряхивать!) и дождаться полного разделения слоев. Экстракты (нижний слой) объединяют в концентраторе, осушитель обмывают 10 мл хлористого метилена, объединяют с основным экстрактом и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила (помещают на 30 с в ультразвуковую ванну), тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 8 мл очищенной воды, перемешивают и очищают на концентрирующем патроне Диапак-$С_8$, как указано в п. 2.5.1.2.

После очистки элюат упаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл смеси для растворения образцов и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.4. Зеленая масса сахарной, столовой и кормовой свеклы

Образец измельченной зеленой массы массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют последовательно 0,1 мл концентрированной соляной кислоты, 50 мл этилацетата и экстрагируют Десмедифам в течение 10 мин на ультразвуковой ванне. Колбу дополнительно встряхивают в течение 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракт фильтруют в концентратор через бумажный фильтр «красная лента».

Экстракцию повторяют еще два раза, добавляя каждый раз по 0,1 мл концентрированной соляной кислоты и 50 мл ацетонитрила, выдерживая по 10 мин на ультразвуковой ванне и встряхивая дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракты фильтруют и объединяют в концентраторе, добавляют 5 мл дистиллированной воды и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до водного остатка.

К водному остатку добавляют 5 мл смеси для растворения образцов и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в тот же концентратор добавляют 30 мл воды, 10 мл насыщенного раствора поваренной

соли, перемешивают и переносят содержимое концентратора в делительную воронку объемом 250 мл. Концентратор обмывают 30 мл хлористого метилена, помещают его в ту же делительную воронку и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний слой хлористого метилена собирают в концентратор через слой безводного сульфата натрия.

Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя по 30 мл хлористого метилена и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. Для полного разделения водного слоя и слоя хлористого метилена дают выстояться содержимому делительной воронки после встряхивания 5—7 мин. В случае образования эмульсии при третьей экстракции хлористым метиленом, к содержимому делительной воронки необходимо добавить 100 мл дистиллированной воды, перемешать (не встряхивать!) и дождаться полного разделения слоев. Экстракты (нижний слой) объединяют в концентраторе, осушитель обмывают 10 мл хлористого метилена, объединяют с основным экстрактом и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл этилацетата, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют в концентратор 50 мл гексана, перемешивают и переносят содержимое концентратора в *сухую(!)* делительную воронку. Туда же добавляют 20 мл ацетонитрила и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний ацетонитрильный слой собирают в концентратор объемом 100 мл. Экстракцию ацетонитрилом повторяют еще 2 раза порциями по 20 мл. Ацетонитрильные экстракты объединяют и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила (помещают на 30 с в ультразвуковую ванну), тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 8 мл очищенной воды, перемешивают и очищают на концентрирующих патронах Диапак-$С_8$ и Диапак-С, как указано в п. 2.5.2.2.

После очистки на патронах элюат упаривают досуха, растворяют в 5 мл смеси для растворения образцов 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 Zorbax SB-C18, 4,6 мм × 25 см, зернением 5 мкм.

Время удерживания Десмедифама 12,55—13,33 мин.

Температура колонки 25 °С.

Подвижная фаза	ацетонитрил–вода в соотношении 45 : 50.
Чувствительность	0,005 ед. оптической плотности на шкалу.
Объем вводимой пробы	20 мкл.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

Промывка колонки после выхода Десмедифама в течение 15 мин. Общее время хроматографирования одной пробы 30 мин.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Содержание Десмедифама рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Десмедифама 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 Десмедифама 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., 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