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 Бенсултапа в воде, почве, клубнях картофеля, зерне и соломе зерновых колосовых культур, томатах и баклажанах методом газожидкостной хроматографии

Методические указания
МУК 4.1.1427—03

1. Вводная часть

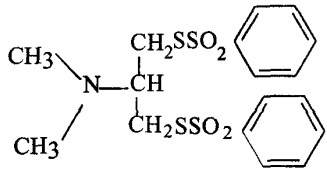
Фирма-производитель: Такеда Кемикал Индастриз, Япония.

Торговое название препарата: Банкол.

Название по ИСО: Бенсултап.

Название по ИЮПАК: S,S′-2-диметиламинотриметилен ди(бензотиосульфонат).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{17}H_{21}NO_4S_4$.

Молекулярная масса: 431,4.

Химически чистое вещество представляет собой палево-желтые кристаллы со слабым характерным запахом и температурой плавления 83—84 °С (разрушается при нагревании до 150 °С).

Давление паров: 0,21 mPa (22 °С).

K_{ow} – 2 300 (37 °С).

Растворимость: в воде – 0,7—0,8 мг/кг; метаноле – 25, этаноле – 13, н-гексане – 0,17, ацетоне, ацетонитриле, хлороформе – более 1 000 г/кг при 25 °С. В щелочном и водном растворе быстро гидролизуется. Устойчив в подкисленном водном растворе (pH ниже 5,0).

Бенсултап является малостойким в почве веществом с $ДТ_{50}$ 3—35 дней.

Краткая токсикологическая характеристика. Бенсултап относится к веществам малоопасным по острой пероральной ($ЛД_{50}$ крысы – 1 105—1 120 мг/кг), малоопасным по дермальной ($ЛД_{50}$ кролики – более 2 000 мг/кг) и опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ крысы – 4 часа – более 0,47 мг/л.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД – 0,03 мг/кг/сутки;

ОДК в почве – 0,06 мг/кг;

ПДК в воде – 0,01 мг/л;

Остаточные количества Бенсултапа в зерне хлебных злаков, картофеле, томатах, баклажанах и хмеле не допускаются.

Область применения препарата. Бенсултап – инсектицид контактного и кишечного действия, ингибирующий взаимодействие ацетилхолина с постсинаптическими рецепторами при передаче нервных импульсов. Эффективно подавляет развитие многих видов вредителей, особенно жесткокрылых и чешуекрылых.

Зарегистрирован в России под торговым названием Банкол, смачивающийся порошок – 500 г/кг, в качестве инсектицида для подавления численности колорадского жука на картофеле, томатах и баклажанах, люцернового долгоносика и рапсового цветоеда на хмеле и рапсе, соответственно при нормах расхода 0,2—1,0 кг/га (до двух обработок за сезон) со сроком последней обработки – 20—40 дней до уборки.

2. Методика определения остаточных количеств Бенсултапа в воде, почве, клубнях картофеля, зерне и соломе зерновых колосовых культур, томатах и баклажанах методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на газохроматографическом определении непосредственно Бенсултапа или продукта его гидролиза после экстракции из анализируемой пробы органическим растворителем (с последующим гидролизом), очистки экстракта перераспределением между двумя жидкими несмешивающимися фазами и на колонке с Флоризилом с исполь-

зованием пламенно-фотометрического детектора на серу на неподвижной фазе OV-17 + QF-1 или Карбовакс-20М.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

При газохроматографическом определении остаточных количеств Бенсултапа производится его гидролиз.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $p = 0,95$, $n = 20$				
	предел обнаружения Бенсултапа, мг/кг (л)	диапазон определяемых концентраций, мг/кг (л)	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S	доверительный интервал среднего результата, %, ±
вода	0,01	0,01—0,20	78,9	1,31	78,9 ± 2,7
почва	0,02	0,02—0,20	80,4	0,97	80,4 ± 2,0
зерно	0,05	0,05—0,25	84,5	0,045	84,5 ± 2,1
солома	0,10	0,10—0,50	81,1	0,061	81,1 ± 2,9
томаты	0,04	0,04—0,40	75,8	0,034	75,8 ± 1,6
баклажаны	0,04	0,04—0,40	73,2	0,024	73,2 ± 1,2
клубни картофеля	0,04	0,04—0,20	77,1	0,025	77,1 ± 1,2

Таблица 2

Доверительный интервал и полнота определения Бенсултапа в воде, почве и клубнях картофеля

Анализируемый объект	Добавлено Бенсултапа, мг/кг (л)	Обнаружено Бенсултапа, мг/кг (л)	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
1	2	3	4	5
вода	0,01	0,0077	0,00097	77,1
	0,02	0,016	0,0012	77,6
	0,03	0,023	0,0022	78,3
	0,04	0,033	0,0021	82,7
почва	0,02	0,017	0,002	82,5
	0,05	0,04	0,002	80,0
	0,10	0,079	0,006	78,7
	0,20	0,161	0,004	80,3

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5
зерно	0,05	0,0391	0,0008	78,3
	0,10	0,083	0,0012	83,0
	0,15	0,1305	0,0001	87,0
	0,25	0,2244	0,0019	89,8
солома	0,10	0,071	0,0002	71,0
	0,20	0,165	0,0067	82,5
	0,30	0,2554	0,0003	85,1
	0,50	0,4278	0,0038	85,6
томаты	0,04	0,0288	0,0009	72,0
	0,10	0,0759	0,0049	75,9
	0,20	0,1558	0,0063	77,9
	0,40	0,3096	0,0088	77,4
баклажаны	0,04	0,0287	0,0006	71,7
	0,10	0,0742	0,0025	74,2
	0,20	0,1429	0,0048	71,4
	0,40	0,3010	0,0119	75,3
картофель	0,08	0,0594	0,0003	74,3
	0,12	0,0912	0,0030	76,0
	0,16	0,1248	0,0010	78,0
	0,20	0,1604	0,0027	80,2

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании картофеля (дитиокарбаматы, фосфорорганические соединения, пиретроиды).

2.2. Реактивы, растворы, оборудование и приборы

2.2.1. Реактивы и растворы

Аммиак водный, осч	ГОСТ 9293—74
Ацетон, хч	ТУ 6-09-3513—86
Ацетонитрил	ТУ 6-09-3534—74
Бенсултап, аналитический стандарт фирмы Такеда Кемикал Индастриз, Япония, с содержанием д.в. не менее 95 %	
Вода дистиллированная	ГОСТ 7602—72
н-Гексан, хч	ТУ 6-09-3375—78

Кислота хлороводородная (соляная) 0,1 и 0,5 н водный раствор	
Кислота хлороводородная, концентрированная, хч	ГОСТ 3118—77
Кислота щавелевая	ГОСТ 22180—76
Метилен хлористый	ГОСТ 12794—80
Насадка для газохроматографической колонки готовая, 5 % OV-17 + 1 % QF-1 на Хроматоне N-AW-DMCS, 0,12—0,15 мм, Хемапол, Чехия	
Насадка для газохроматографической колонки готовая, 5 % Карбовакса 20 М на Хроматоне-N-AW-DMCS, 0,12—0,15 мм, Хемапол, Чехия	
Натрия сульфат безводный, чда	ГОСТ 4166—76
Натрия хлорид	ГОСТ 4233—77
Никеля хлорид 6-водный, чда	ГОСТ 4038—79
Спирт метиловый (метанол)	ГОСТ 6995—77
Спирт этиловый, ректификат	ГОСТ 5962—67
Флоризил для колоночной хроматографии с размером частиц 60—80 меш, фирма Мерк или аналогичный	
Хлороформ, хч	ГОСТ 20015—74
L-Цистеина гидрохлорид моногидрат	

2.2.2. Приборы, оборудование и посуда

Аппарат для встряхивания или аналогичный	ТУ 64-1-1081—73
Баня водяная	ТУ 64-1-2850—76
Вакуумный водоструйный насос	ГОСТ 25336—82Е
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 Бюхнера фарфоровые	ГОСТ 9147—80Е
Воронки делительные на 1 000, 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 Бунзена	ГОСТ 25336—82Е

Колбы мерные на 100, 50, 25 и 10 мл	ГОСТ 1770—74
Колбы плоскодонные и круглодонные со шлифами	ГОСТ 9737—70
Мельница лабораторная электрическая или аналогичная	ТУ 46-22-236—84
Мерные цилиндры на 500 и 50 мл	ГОСТ 1770—74 Е.
Микрошприц для газового хроматографа на 10 мкл, МШ-10	ГОСТ 20292—74Е
Миксер хозяйственный	
Стаканы стеклянные на 100—500 мл	ГОСТ 25366—80Е
Стеклянный холодильник с прямой трубкой	ГОСТ 9737—70
Фильтры бумажные	ТУ 6-09-1678—77
Хроматограф газовый Пай Юникум с пламенно-фотометрическим детектором или аналогичный с пределом детектирования по сере не выше 1×10^{-11} г/см^3	
Центрифуга	МРТУ 42-219—69
Эксикатор	ГОСТ 25336—82Е

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Приготовление стандартных растворов

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

Стандартный раствор № 1 можно хранить в холодильнике в течение 6 месяцев.

Методом последовательного разбавления готовят стандартный раствор с концентрацией 10 мкг/мл, который можно хранить в холодильнике в течение 30 дней (стандартный раствор № 2).

2.3.2. Подготовка колонок с Флоризилом для очистки экстракта

В стеклянную или пластмассовую колонку длиной 15 см, диаметром 1,5 см помещают на дно стекловату и заполняют колонку Флоризилом на высоту 10 см. На слой Флоризила наносят слой безводного серно-кислого натрия толщиной 1 см. За день до очистки экстракта промывают колонку последовательно 20 мл ацетона и 20 мл гексана. После этого колонка готова к работе.

2.3.3. Проверка хроматографического поведения Бенсултапа на колонках с Флоризилом

При отработке методики или поступлении новой партии сорбента (Флоризил) проводят изучение поведения Бенсултапа на колонке. Для этого на подготовленную колонку, как указано в разделе 2.3.2, наносят 1 мл стандартного ацетонового раствора Бенсултапа концентрацией 10 мкг/мл. Затем колонку промывают 25 мл смеси гексан–ацетон 3 : 2, отбирая последовательно по 5 мл элюента. Каждую фракцию объемом 5 мл собирают отдельно и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40 °С. Сухие остатки растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 2 мкл раствора. По результатам обнаружения Бенсултапа в каждой фракции определяют объем смеси гексан-ацетон, необходимый для полного вымывания Бенсултапа из колонки.

2.3.4. Построение градуировочного графика (газохроматографическое определение Бенсултапа в воде, почве, томатах и баклажанах)

Для построения градуировочного графика методом последовательного разбавления ацетоном из стандартного раствора № 2 готовят стандартные растворы с концентрацией 1,0; 2,5; 5,0 и 10,0 мкг/мл. Вводят в хроматограф по 5 мкл каждого из полученных растворов, измеряют высоту пиков и строят график зависимости высоты пика от логарифма концентрации Бенсултапа.

2.3.5. Подготовка и кондиционирование колонки для газожидкостной хроматографии

Готовую насадку (5 % Карбовакса 20 М на Хроматоне-N-AW-DMCS 0,12—0,15 мм или 5 % OV-17 + 1 % QF-1 на Хроматоне-N-AW-DMCS 0,12—0,15 мм) засыпают в стеклянную колонку, уплотняют под вакуумом, колонку устанавливают в термостате хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют в токе азота при температуре не выше 215 °С в течение 16—20 часов.

2.3.6. Приготовление 0,1 н раствора соляной кислоты, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида L-цистеина

Для приготовления раствора берут навеску 10 г моногидрата гидрохлорида L-цистеина, помещают в мерную колбу на 1 л, доводят объем до метки 0,1 н соляной кислотой и тщательно перемешивают.

2.3.7. Приготовление 0,02 н раствора соляной кислоты, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида L-цистеина

Для приготовления раствора берут навеску 10 г моногидрата гидрохлорида L-цистеина, помещают в мерную колбу на 1 л, доводят объем до метки 0,02 н соляной кислотой и тщательно перемешивают.

2.3.8. Приготовление 30 % раствора этанола в 0,1 н соляной кислоте, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида L-цистеина

В мерную колбу на 1 л помещают 300 мл этилового спирта, 10 г моногидрата гидрохлорида L-цистеина и доводят объем до метки 0,1 н соляной кислотой (изменением объема смеси при растворении пренебрегают). Тщательно перемешивают.

2.3.9. Приготовление 4 % раствора 6-водного хлорида никеля

Навеску этого вещества (10 г) 6-водного хлорида никеля помещают в мерную колбу на 250 мл, доводят объем до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2.3.10. Приготовление 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле

Навеску этого вещества (50 г) помещают в мерную колбу на 250 мл, доводят объем до метки метанолом и тщательно перемешивают.

2.3.11. Приготовление стандартных растворов продукта гидролиза Бенсултапа

2.3.11.1. Приготовление градуировочных растворов продукта гидролиза Бенсултапа для определения его в зерне.

В коническую колбу на 100 мл помещают 50 мл 30 % раствора этанола в 0,1 н соляной кислоте, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида L-цистеина, добавляют 1 мл стандартного раствора Бенсултапа № 2. Колбу встряхивают на механическом встряхивателе в течение 3 часов.

По окончании встряхивания в коническую колбу добавляют 1 мл 4 % раствора 6-водного хлорида никеля и водный раствор аммиака до pH 8 (приблизительно 0,5 мл). Тщательно перемешивают.

Содержимое конической колбы переносят в делительную воронку на 250 мл и три раза экстрагируют продукт гидролиза Бенсултапа из щелочного раствора хлористым метиленом порциями по 50, 30 и 30 мл. Слои метилена (нижние) собирают через безводный сульфат натрия в концентратор, в который добавляют 5 мл 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле с тщательным перемешиванием. Содержимое концентратора выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Последовательно растворяя содержимое концентратора в 2, 5 и 10 мл метанола получают градуировочные растворы продукта гидролиза Бенсултапа, с концентрациями, соответствующими содержанию Бенсултапа 5, 2 и 1 мкг/мл, соответственно. Отобрав из концентратора 3 мл градуировочного раствора 1 мкг/мл, упарив их досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С, и разведя в 1 мл метанола, получают градуировочный раствор с концентрацией продукта гидролиза 3 мкг/мл.

Полученные градуировочные растворы, используют для построения градуировочного графика.

2.3.11.2. Приготовление градуировочных растворов продукта гидролиза Бенсултапа для определения его в соломе.

В коническую колбу на 100 мл помещают 50 мл 0,02 н раствора соляной кислоты, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида L-цистеина, добавляют 1 мл стандартного раствора Бенсултапа № 2 (10 мкг/мл). Колбу встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Затем снимают со встряхивателя и оставляют в покое на ночь при комнатной температуре. На следующий день колбу повторно встряхивают в течение 1,5 часов.

Далее для получения градуировочных растворов продукта гидролиза Бенсултапа для определения его в соломе действуют, как описано в п. 2.3.11.1.

2.3.11.3. Приготовление градуировочных растворов продукта гидролиза Бенсултапа для его газохроматографического определения в клубнях картофеля.

В коническую колбу на 250 мл помещают 120 мл 0,1 н раствора соляной кислоты, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида L-цистеина, добавляют 1 мл стандартного раствора Бенсултапа № 2 (10 мкг/мл). Колбу встряхивают на механическом встряхивателе в течение 1 ч 15 мин.

В коническую колбу добавляют 3 мл 4 % раствора 6-водного хлорида никеля и водный раствор аммиака до pH 8. Колбу встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин.

Содержимое конической колбы переносят в делительную воронку на 250 мл и три раза экстрагируют продукт гидролиза Бенсултапа из щелочного раствора хлористым метиленом, порции 100, 50 и 30 мл. Слои метилена собирают через безводный сульфат натрия в концентратор, в который добавляют 5 мл 2 % раствора щавелевой кислоты в метаноле. Содержимое концентратора упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее для получения градуировочных растворов продукта гидролиза Бенсултапа для определения его в картофеле действуют, как описано в п. 2.3.11.1.

2.3.12. Построение градуировочных графиков (для газохроматографического определения Бенсултапа в зерне, соломе и клубнях картофеля)

Для построения градуировочных графиков растворы, полученные как указано в пп. 2.3.11.1, 2.3.11.2 и 2.3.11.3, вводят по 5 мкл каждого в хроматограф (при показаниях аттенюатора 1 × 8) и измеряют высоту полученных пиков. Строят графики зависимости логарифма (десятичного) высоты пика от логарифма концентрации продуктов гидролиза Бенсултапа.

Получают градуировочные графики для определения Бенсултапа в зерне, соломе и корнеплодах картофеля, соответственно.

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 клубней картофеля, томатов, баклажанов анализируют в день отбора или замораживают при температуре –18 °С и хранят в морозильной камере до дня анализа при той же температуре.

Для длительного хранения пробы почвы, зерна и соломы подсушиваются при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Пробы зерна и соломы подсушивают до критической влажности и хранят в воздушно-сухом состоянии. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, пробы клубней картофеля измельчают на крупной терке, а пробы зерна и соломы – на лабораторной мельнице. Плоды томатов и баклажанов измельчают в миксере.

2.5. Описание определения

2.5.1. Вода

Пробу воды объемом 250 мл помещают в делительную воронку емкостью 500 мл, подкисляют 0,1 н соляной кислотой до pH 4—4,5, добавляют 60 г хлорида натрия и встряхивают до полного растворения соли.

Затем Бенсултап экстрагируют 100 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивая воронку в течение 2 мин. После разделения слоев

нижний метилен хлоридный слой собирают в круглодонную колбу, пропуская через слой безводного серно-кислого натрия. Экстракцию повторяют еще 3 раза, используя каждый раз по 50 мл метилен хлорида и добавляя в делительную воронку при каждой экстракции по 10 г хлористого натрия.

Объединенный экстракт упаривают на роторном испарителе досуха при температуре водяной бани не более 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и вводят в хроматограф 5 мкл пробы.

2.5.2. Почва

Навеску воздушно-сухой почвы 50 г помещают в коническую колбу объемом 200—250 мл, добавляют в колбу 20 мл 0,5 н соляной кислоты и содержимое тщательно перемешивают, добиваясь полного смачивания почвы. После этого в колбу приливают 50 мл ацетонитрила и колбу встряхивают в течение 30 мин. Содержимое колбы переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 5 мин. Супернатант осторожно сливают через бумажный фильтр в концентратор объемом 250 мл. Содержимое центрифужного стакана возвращают в колбу, обмывая стакан 10 мл 0,5 н соляной кислоты и 50 мл ацетонитрила. Встряхивают колбу в течение 30 мин. Содержимое колбы переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 5 мин. Жидкую фазу переносят в тот же концентратор методом декантации через тот же бумажный фильтр. Экстракцию с центрифугированием повторяют 3-й раз, используя 10 мл кислоты и 50 мл ацетонитрила. Экстракты объединяют.

Объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе до полного удаления ацетонитрила при температуре не выше 40 °С. Водный остаток переносят в делительную воронку объемом 250 мл, обмывая концентратор 20 мл дистиллированной воды. К водному экстракту в воронке приливают 20 мл н-гексана, встряхивают воронку в течение 1 мин и после разделения слоев гексановую фракцию отбрасывают. Повторяют операцию еще раз, используя 20 мл гексана.

Добавляют в воронку 5 г хлористого натрия, встряхивают воронку до полного его растворения и приливают 50 мл метиленхлорида. Встряхивают воронку в течение 2 мин, и после разделения слоев нижний метилен хлоридный слой собирают в концентратор, пропуская его через слой безводного сернокислого натрия. Повторяют экстракцию метилен хлоридом еще 2 раза, используя по 50 мл метиленхлорида. Метилен хлоридную фракцию объединяют в концентраторе и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до полного удаления метиленхлорида при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток в концентраторе раство-

ряют в 1 мл ацетона и наносят на колонку с Флоризилом. При переэкстракции Бенсултапа в метилен хлорид возможно образование достаточно стойкой эмульсии. В этом случае собирают метилен хлоридную фракцию в отдельную делительную воронку и промывают экстракт 2 порциями дистиллированной воды, объемом 50 мл каждая.

Очистка экстракта на колонке. После нанесения ацетонового экстракта промывают колонку последовательно 10 мл гексана и 5 мл смеси гексан–ацетон в соотношении 3 : 2. Смывы отбрасывают. Промывают колонку 15 мл смеси гексан–ацетон (3 : 2), смыв собирают в концентратор и упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и хроматографируют 2—5 мкл пробы.

2.5.3. Картофель

Навеску клубней картофеля (50 г) измельчают, помещают в коническую колбу на 250 мл, заливают 50 мл 0,1 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина. Инсектицид экстрагируют на аппарате для встряхивания в течение 30 мин.

Экстракт переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 5 мин. Супернатант фильтруют под вакуумом через бумажный фильтр «красная лента» в фарфоровой воронке Бюхнера в колбу Бунзена. Осадок из центрифужного стакана возвращают в колбу, обмывая стакан двумя порциями по 20 мл 0,1 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина.

Повторяют экстракцию 40 мл 0,1 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина в течение 30 мин. Центрифугируют и фильтруют экстракт. Осадок из центрифужного стакана возвращают в колбу, обмывая стакан двумя порциями по 15 мл 0,1 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина.

Повторяют экстракцию 30 мл 0,1 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина в течение 15 мин, центрифугируют и фильтруют экстракт.

Профильтрованные экстракты объединяют в колбе на 500 мл с герметичной пробкой, добавляют в нее 3 мл 4 % раствора 6-водного хлорида никеля и водный раствор аммиака до pH 8, встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин.

В колбу на 500 мл добавляют 100 мл хлористого метилена, плотно закрывают пробкой, интенсивно встряхивают, экстрагируя продукт гидролиза Бенсултапа из щелочного раствора.

При экстракции в дихлорметан образуется достаточно стойкая эмульсия.

Эмульсию собирают в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 10—15 мин.

Образующиеся в стакане после центрифугирования водный и метилен хлоридный слои аккуратно декантируют в делительную воронку, оставляя студенистый осадок крахмала в центрифужном стакане.

Затем центрифужный стакан тщательно ополаскивают 3 порциями по 10 мл хлористого метилена, хлористый метилен переносят методом декантации в делительную воронку, не допуская попадания в нее осадка крахмала. Делительную воронку оставляют в покое до разделения слоев воды и хлористого метилена. Слой дихлорметана собирают в коническую колбу на 500 мл, пропуская через безводный сульфат натрия.

Из водного слоя продукт гидролиза Бенсултапа экстрагируют еще два раза, используя по 50 мл хлористого метилена. При повторных экстракциях также образуется стойкая эмульсия. Эмульсию следует центрифугировать при 2 000 об./мин 10—15 мин, после чего водный и метилен хлоридный слои переносят в делительную воронку и выдерживают до разделения слоев. Студнеобразный осадок крахмала оставляют в центрифужном стакане и каждый раз промывают 3 порциями по 10 мл хлористого метилена. Эти порции дихлорметана также переносят в делительную воронку.

Слои дихлорметана объединяют в конической колбе на 500 мл, пропуская через безводный сульфат натрия, частями помещают в концентратор на 250 мл, в который добавляют 5 мл 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле.

Выпаривают содержимое концентратора досуха на ротационном вакуумном испарителе. Анализ можно прервать на этом этапе и хранить образец в сухом виде не более 12 часов (ночь) в холодильнике.

Сухой остаток в концентраторе разводят в 2 мл ацетона. В концентратор добавляют 30 мл хлористого метилена, тщательно обмывают стенки концентратора. Растворители переносят из концентратора в делительную воронку. Концентратор дважды обмывают порциями дихлорметана по 10 мл, которые также помещают в делительную воронку.

Если не требуется прервать анализ, то содержимое концентратора следует упаривать не досуха, а до объема 30 мл. Этот объем переносят в делительную воронку. Концентратор дважды обмывают порциями дихлорметана по 10 мл, которые также помещают в делительную воронку.

Продукт гидролиза Бенсултапа экстрагируют из хлористого метилена три раза 0,02 н водным раствором соляной кислоты порциями по 30 мл. Водный слой (верхний) собирают в стакан на 100 мл, добавляют к ней раствор аммиака в воде до pH 8, тщательно перемешивают.

Водный раствор переносят в делительную воронку на 250 мл и экстрагируют продукт гидролиза хлористым метиленом 3 раза порциями 70, 50 и 30 мл. Метилен хлоридные слои собирают в концентратор через безводный сульфат натрия. В концентратор добавляют 5 мл 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле и упаривают содержимое досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 2 мл метанола и хроматографируют 2—5 мкл пробы.

2.5.4. Зерно

Навеску 20 г измельченного зерна помещают в коническую колбу, заливают 70 мл 30 % раствора этанола в 0,1 н соляной кислоте, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина. Инсектицид экстрагируют на аппарате для встряхивания в течение 1 часа.

Экстракт переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 5 мин. Супернатант фильтруют под вакуумом через бумажный фильтр «красная лента» в фарфоровой воронке Бюхнера в колбу Бунзена. Осадок из центрифужного стакана возвращают в колбу, обмывая стакан несколькими порциями по 10 мл 30 % раствора этанола в 0,1 н соляной кислоте, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина.

Повторяют экстракцию 50 мл 30 % раствора этанола в 0,1 н соляной кислоте, содержащего 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина, еще два раза по 1 часу, центрифугируют и фильтруют экстракты.

Профильтрованные экстракты объединяют в концентраторе на 250 мл. Добавляют в концентратор 4 мл 4 % раствора 6-водного хлорида никеля и водный раствор аммиака до pH 8, тщательно перемешивают.

Выпаривают спирт, содержащийся в экстракте, на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Водный остаток фильтруют в делительную воронку на 250 мл через фильтр «красная лента».

Добавляют в делительную воронку 50 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивают, экстрагируя продукт гидролиза Бенсултапа из щелочного раствора. Оставляют в покое до разделения слоев воды и хлористого метилена.

При экстракции в дихлорметан возможно образование достаточно стойкой эмульсии. В этом случае в делительной воронке наблюдается три слоя жидкости: водный слой, слой эмульсии и слой хлористого метилена.

Метилен хлоридный слой собирают через безводный сульфат натрия в концентратор на 250 мл.

Слой эмульсии собирают в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 10 мин. Образующиеся в стакане после центрифугирования водный и метилен хлоридный слои аккуратно декантируют в делительную воронку, оставляя сбившийся крахмал в центрифужном стакане. Стакан тщательно ополаскивают 3 порциями по 20 мл хлористого метилена, хлористый метилен аккуратно переносят методом декантации в делительную воронку, не допуская попадания в нее сбившегося крахмала. Оставляют в покое до разделения слоев воды и хлористого метилена.

Из водного слоя продукт гидролиза Бенсултапа экстрагируют еще два раза, используя по 50 мл хлористого метилена, после чего водный слой отбрасывают.

Все слои дихлорметана пропускают через безводный сульфат натрия и объединяют в концентраторе на 250 мл, в который добавляют 5 мл 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле. Упаривают содержимое концентратора досуха на ротационном вакуумном испарителе.

Анализ можно прервать на этом этапе и хранить образец в сухом виде не более 12—14 часов (ночь) в холодильнике.

Сухой остаток разводят в 20 мл хлористого метилена, переносят из концентратора в делительную воронку. Концентратор дважды обмывают порциями дихлорметана по 10мл, которые также помещают в делительную воронку. Продукт гидролиза Бенсултапа экстрагируют из хлористого метилена три раза 0,02 н соляной кислотой, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина, порциями 40, 30 и 30 мл. Кислоту собирают в стакан на 200 мл, добавляют к ней 2 мл 4 % раствора 6-водного хлорида никеля и раствор аммиака в воде до щелочной реакции (pH 8), тщательно перемешивают.

Водный раствор переносят в делительную воронку на 250 мл и экстрагируют продукт гидролиза хлористым метиленом 3 раза по 50 мл. Метилен хлоридные слои собирают в концентратор через безводный сульфат натрия. В концентратор добавляют 5 мл 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле и упаривают содержимое досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 мл метанола и хроматографируют 2—5 мкл пробы.

2.5.5. Солома

Навеску 10 г измельченной соломы помещают в коническую колбу, заливают 150 мл 0,02 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина. Инсектицид экстрагируют на аппарате для встряхивания в течение 30 мин. Затем снимают колбу со встряхивателя

и оставляют в покое на ночь при комнатной температуре. На следующий день снова встряхивают колбу в течение 30 мин.

Экстракт осторожно декантируют на бумажный фильтр «красная лента» в фарфоровой воронке Бюхнера и фильтруют под вакуумом в колбу Бунзена. Осадок с фильтра возвращают в колбу.

Повторяют экстракцию 100 мл 0,02 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина, в течение 30 мин. Экстракт фильтруют под вакуумом. Экстракцию повторяют еще 2 раза по 50 мл 0,02 н соляной кислоты, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина, по 10 мин. Экстракты фильтруют под вакуумом.

Профильтрованные экстракты объединяют в колбе на 500 мл, добавляют в нее 5 мл 4 % раствора 6-водного хлорида никеля и водный раствор аммиака до pH 8, тщательно перемешивают.

Подщелоченный экстракт переносят в делительную воронку на 500 мл, в которую добавляют 150 мл хлористого метилена, интенсивно встряхивают, экстрагируя продукт гидролиза Бенсултапа из щелочного раствора. Оставляют в покое до разделения слоев воды и хлористого метилена.

При экстракции в дихлорметан возможно образование достаточно стойкой эмульсии. В этом случае в делительной воронке наблюдается три слоя жидкости: водный слой, слой эмульсии и слой хлористого метилена.

Метилен хлоридный слой собирают через безводный сульфат натрия в концентратор на 250 мл.

Слой эмульсии собирают в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 10 мин. Образующиеся в стакане после центрифугирования водный и метилен хлоридный слои аккуратно декантируют в делительную воронку, оставляя хлопья осадка в центрифужном стакане. Стакан тщательно ополаскивают 3 порциями по 20 мл хлористого метилена, помещают методом декантации этот метилен в делительную воронку, не допуская попадания в нее хлопьев осадка. Оставляют в покое до разделения слоев воды и хлористого метилена.

Из водного слоя продукт гидролиза Бенсултапа экстрагируют еще два раза, используя по 100 мл хлористого метилена, после чего водный слой отбрасывают.

Все слои дихлорметана пропускают через безводный сульфат натрия, объединяют, частями помещают в концентратор на 250 мл, в который добавляют 5 мл 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле.

Упаривают содержимое концентратора досуха на ротационном вакуумном испарителе. Анализ можно прервать на этом этапе и хранить образец в сухом виде не более 12 часов (ночь) в холодильнике.

Сухой остаток разводят в 20 мл хлористого метилена, переносят из концентратора в делительную воронку. Концентратор дважды обмывают порциями дихлорметана по 10 мл, которые также помещают в делительную воронку.

Если нет потребности прервать анализ, то содержимое концентратора можно упаривать не досуха, а до объема 20—30 мл. Этот объем переносят в делительную воронку. Концентратор дважды обмывают порциями дихлорметана по 10 мл, которые также помещают в делительную воронку.

Продукт гидролиза Бенсултапа экстрагируют из хлористого метилена три раза 0,02 н соляной кислотой, содержащей 1 % моногидрата гидрохлорида цистеина, порциями 40, 30 и 30 мл. Кислоту собирают в стакан на 200 мл, добавляют к ней 4 мл 4 % раствора 6-водного хлорида никеля и раствор аммиака в воде до щелочной реакции (pH 8), тщательно перемешивают.

Водный раствор переносят в делительную воронку на 250 мл и экстрагируют продукт гидролиза хлористым метиленом 3 раза по 50 мл. Метилен хлоридные слои собирают в концентратор через безводный сульфат натрия. В концентратор добавляют 5 мл 20 % раствора щавелевой кислоты в метаноле и упаривают содержимое досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 мл метанола и хроматографируют 2—5 мкл пробы.

2.5.6. Томаты и баклажаны

Внимание! При определении остаточных количеств Бенсултапа в томатах или баклажанах очистку экстракта следует проводить по возможности быстро, затрачивая на процедуру очистки не более 2 часов (не считая времени, в течение которого упаренный экстракт хранится в холодильнике). В противном случае может происходить частичное разложение Бенсултапа в процессе анализа. При этом в предлагаемых условиях на хроматограмме могут наблюдаться пик Бенсултапа и пик, соответствующий продукту разложения Бенсултапа, с коэффициентом разделения менее 1.

Навеску измельченных томатов или баклажанов 50 г помещают в коническую колбу объемом 200—250 мл, добавляют в колбу 5 мл 1,0 н соляной кислоты и тщательно встряхивают содержимое. После этого приливают 50 мл ацетонитрила и колбу встряхивают в течение 30 мин. Содержимое колбы переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 5 мин. Супернатант осторожно сливают через бумажный фильтр в другую коническую колбу, объемом

250 мл. Содержимое центрифужного стакана возвращают в первую коническую колбу, обмывая стакан 3 мл 1,0 н соляной кислоты и 30 мл ацетонитрила. Встряхивают колбу в течение 30 мин. Содержимое колбы переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 000 об./мин 5 мин. Жидкую фазу переносят во вторую коническую колбу методом декантации через тот же бумажный фильтр. Экстракцию, центрифугирование и фильтрование повторяют третий раз, используя 2 мл кислоты и 20 мл ацетонитрила. Экстракты объединяют во второй конической колбе.

Добавляют в колбу с экстрактом 5 г хлористого натрия и тщательно ее встряхивают. Содержимое переливают в делительную воронку, не допуская попадания в воронку не растворившегося остатка хлорида натрия. Оставляют в покое до разделения слоев. После разделения слоев нижний водный слой отбрасывают. Верхний ацетонитрильный слой собирают в коническую колбу, пропуская его через слой безводного сернокислого натрия. Промывают безводный сернокислый натрий 5 мл ацетонитрила.

Ацетонитрил из конической колбы переливают в сухую делительную воронку. К ацетонитрилу в делительной воронке приливают 20 мл н-гексана, встряхивают воронку в течение 1 мин и после разделения слоев гексановую фракцию отбрасывают. Повторяют операцию еще два раза, используя по 20 мл гексана.

Ацетонитрильный слой из делительной воронки собирают в концентратор и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 40 °С.

Внимание! При упаривании возможно резкое интенсивное вскипание экстракта и выброс упариваемой жидкости из концентратора в приемную колбу ротационного вакуумного испарителя. Это приводит к потере части анализируемого вещества. Для недопущения выброса упариваемого экстракта из концентратора следует при начале кипения повысить давление внутри ротационного вакуумного испарителя, приоткрыв на короткое время кран испарителя.

Анализ можно прервать на этом этапе и хранить образец в сухом виде не более 12 часов (ночь) в холодильнике.

В концентратор с упаренной пробой приливают 1 мл ацетона. Тщательно обмывают стенки концентратора. В тот же концентратор добавляют 20 мл н-гексана, перемешивают. Содержимое концентратора переносят в делительную воронку. Концентратор дважды обмывают порциями н-гексана по 5 мл, которые также помещают в делительную воронку.

Экстрагируют Бенсултап три раза по 25 мл 0,02 н соляной кислоты. Кислоту собирают в коническую колбу на 100 мл, добавляют к ней 15 г

хлорида натрия. Встряхивают коническую колбу до полного растворения хлорида натрия.

Водный раствор переносят в делительную воронку на 250 мл и экстрагируют Бенсултап хлористым метиленом 3 раза по 30 мл. Метилен хлоридные слои собирают в концентратор через безводный сульфат натрия. Промывают безводный серно-кислый натрий 5 мл дихлорметана. Содержимое концентратора упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона и хроматографируют 2—5 мкл пробы.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

Хроматограф «Пай Юникум» серия 204 с пламенно-фотометрическим детектором, светофильтр 396 нм или аналогичный хроматограф с пределом детектирования по сере не выше 1×10^{-11} г/см^3.

Показания аттенюатора	1 × 4 или 1 × 8.
Скорость движения ленты самописца	300 мм/ч.

Колонка стеклянная, длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм. Носитель – Хроматон-N-AW-DMCS, зернение – 0,12—0,15 мм, неподвижная фаза – 5 % Карбовакс 20 М.

Температура термостата колонки	190 °С (при анализе проб воды и почвы) или 170 °С (при анализе проб зерна и соломы);
испарителя	250 °С;
детектора	300 °С.
Скорость: газа-носителя	30 мл/мин,
водорода	30 мл/мин;
воздуха	30 мл/мин.
Объем пробы, вводимой в испаритель	2—5 мкл.

Абсолютное время удерживания Бенсултапа 1 мин 48 с, продукта гидролиза Бенсултапа 2 мин 36 с.

Линейность детектирования Бенсултапа сохраняется в пределах 5—50 нг. Предел детектирования – 5 нг.

Альтернативная фаза: 5 % OV-17 + 1 % QF-1 на Хроматоне-N-AW-DWDS, зернение – 0,12—0,15 мм. Длина колонки 2 м.

Температура термостата колонки	200 °С,
испарителя	250 °С,
детектора	300 °С.

Скорость газа-носителя, водорода и воздуха 30 мл/мин.

Объем пробы, вводимой в испаритель 5 мкл.

Абсолютное время удерживания Бенсултапа 2 мин 05 с.

Линейность детектирования сохраняется в пределах 5—50 нг (10—100 нг). Предел детектирования – 5 нг.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту пика.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией Бенсултапа 20,0 мкг/мл или стандартный раствор с концентрацией продукта гидролиза Бенсултапа 5,0 мкг/м, разбавляют.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Содержание Бенсултапа в пробах рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{H_0 \cdot m \cdot 100} \cdot P \text{, где}$$

X – содержание Бенсултапа в пробе, мг/кг (мг/л);

H_1 – высота пика в образце, мм;

H_0 – высота пика стандарта, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования (мл);

m – масса или объем анализируемого образца, г или мл.

P – содержание Бенсултапа 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.; Фролова Н. С.

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