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 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

Методические указания
МУК 4.1.1426—03

1. Вводная часть

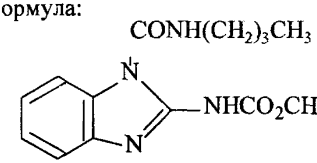
1.1. Фирма-производитель: Агро-Кеми защита растений, Дюпон де Немур.

Торговое название: Фундазол, Бенлат.

Название действующего вещества по ИСО: Беномил.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Метил 1-(бутилкарбомоил)бензимидазол-2-илкарбамат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{14}H_{18}N_4O_3$.

Молекулярная масса: 290,3.

Химически чистый Беномил представляет собой бесцветный кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления – 140 °С (с разложением). Давление паров – $< 5 \times 10^{-3}$ мПа (при 25 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода – K_{ow} log P = 1,37.

Растворимость в воде при 24 °С – 3,6 мкг/л (pH 5), 2,9 мг/л (pH 7), 1,9 мг/л (pH 9). Растворимость в органических растворителях (г/кг при 25 °С): диметилформамид – 53, ацетон – 18, этанол – 4, хлороформ – 94, гептан – 0,4.

Беномил разрушается сильными кислотами и щелочами, в некоторых растворителях диссоциирует до Карбендазима и бутилизоцианата. В водных растворах, во влажной почве, в присутствии воды при хранении быстро разлагается. Стабилен при хранении при температуре ниже 50 °С в отсутствии света и влаги.

В объектах внешней среды Беномил быстро превращается до значительно более стабильного Карбендазима с DT_{50} в почве 19 часов и в воде 2 часа. Такой процесс происходит и в растениях.

Краткая токсикологическая характеристика. Беномил относится к малотоксичным веществам ($ЛД_{50}$ для крыс составляет более 5 000 мг/кг) с малой дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов составляет более 5 000 мг/кг) и средней ингаляционной токсичностью ($СК_{50}$ 4 ч для крыс более 2 мг/л). Возможно проявление отрицательных побочных эффектов.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД для человека – 0,02 мг/кг/сут.

ПДК в воде водоема – 0,5 мг/дм^3.

ОДК в почве – 0,1 мг/кг.

МДУ (мг/кг) корнеплоды сахарной свеклы – 0,1;
зерно хлебных злаков, рис – 0,5.

Остаточные количества в семенах и масле сои, ягодах земляники, смородины, винограда, во фруктах и овощах не допускаются.

Область применения препарата. Беномил – фунгицид системного действия с длительным защитным эффектом из группы производных бензимидазола, эффективно подавляет развитие широкого круга заболеваний растений, вызываемых грибами из классов аскомицетов, базидиомицетов и несовершенных грибов на зерновых и овощных культурах, сахарной свекле, виноградниках, в садах при норме расхода 140—550 г д.в./га и 0,6—1,0 кг д.в./т при обработке семян. Препараты на основе Беномила широко применяются для защиты овощей и фруктов при хранении и транспортировке. Они зарегистрированы в России и странах СНГ под торговыми названиями Фундазол, 500 г/кг СП и Беномил, 500 г/кг СП для применения на зерновых культурах, рисе, сое, льнедолгунце, сахарной свекле, на плантациях винограда, плодовых и ягодных, цветочных и декоративных культур с нормой расхода препарата от 0,3—3 л/га (до 3-х обработок за сезон), а также для обработки семян

зерновых и зернобобовых культур, проса, рапса и риса при норме расхода 1,5—2,5 кг/т.

Препарат Фундазол проходит перерегистрацию в России.

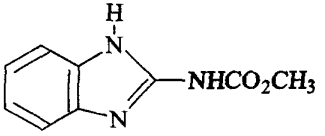
1.2. Фирма-производитель: Агро-Кеми защита растений.

Торговое название: Колфуго.

Название действующего вещества по ИСО: Карбендазим.

Название действующего вещества по ИЮПАК: Метилбензимидазол-2-илкарбамат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_9H_9N_3O_2$.

Молекулярная масса: 191,2.

Химически чистый Карбендазим представляет собой белый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления – 302—307 °С (возгоняется, начиная с 230 °С с разложением при 300 °С). Давление паров – 0,090 мПа (при 20 °С), 0,15 мПа (при 25 °С), 1,3 мПа (при 50 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода – K_{ow} 24 (pH 5), 32 (pH 7), 31 (pH 9).

Растворимость в воде при 24 °С – 29 мг/л (pH 4), 8 мг/л (pH 7), 7 мг/л (pH 8). Растворимость в органических растворителях (г/л при 24 °С): диметилформамид – 5, ацетон – 0,3, этанол – 0,3, хлороформ – 0,1, этилацетат – 0,135, дихлорметан – 0,068 , бензол – 0,036, циклогексан и диэтиловый эфир – менее 0,01, н-гексан – 5×10^{-4} .

Стабилен при хранении при температуре ниже 50 °С и отсутствии света.

Карбендазим является слабым основанием, pKa – 4.2. Хорошо сохраняется в щелочных растворах (22 °С): DT_{50} – более 350 дней (pH 5 и pH 7) и 124 дня (pH 9). Стабилен в кислых растворах, образуя с кислотами водорастворимые соли.

В объектах внешней среды Карбендазим долго сохраняется с DT_{50} в почве от 3 до 12 месяцев и в воде от 2 до 25 месяцев в зависимости от условий. В этих средах он разрушается до 2-аминобензимидазола, период полураспада которого от 8 до 32 дней.

Карбендазим является основным метаболитом Беномила и Тиофанат-метила в воде, почве и растениях.

Краткая токсикологическая характеристика. Карбендазим относится к малотоксичным веществам ($ЛД_{50}$ для крыс составляет более 15 000 мг/кг, для собак – более 2 500 мг/кг) с малой дермальной ($ЛД_{50}$ для кроликов составляет более 10 000 мг/кг, для крыс – более 2 000 мг/кг) и ингаляционной токсичностью. Возможно проявление отрицательных побочных эффектов.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ДСД для человека – 0,01 мг/кг/сут.

ПДК в воздухе рабочей зоны – 0,1 мг/м^3.

ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,01 мг/м^3.

ПДК в воде водоема – 0,1 мг/дм^3.

ОДК в почве – 0,1 мг/кг.

МДУ (мг/кг) корнеплоды сахарной свеклы – 0,1;
зерно хлебных злаков – 0,2.

Остаточные количества в ягодах земляники, смородины, винограда, яблоках и огурцах не допускаются.

Область применения препарата. Карбендазим – фунгицид системного действия с длительным защитным эффектом из группы производных бензимидазола, эффективно подавляет развитие заболеваний растений, вызываемых грибами из родов Septoria, Fusarium, Erysiphe, Tilletia, Ustilago и Pseudocercosporella на зерновых культурах, Cercospora и Erysiphe на сахарной свекле, Uncinula и Botrytis на виноградниках при норме расхода 120—600 г д.в./га и 0,6—0,8 кг/т при обработке семян. Зарегистрирован в России и странах СНГ под торговыми названиями Колфуго Супер, 200 г/л ВС для применения на зерновых культурах, сахарной свекле, на плантациях плодовых культур с нормой расхода препарата от 0,3—2 л/га (до 3 обработок за сезон), а также Колфуго Супер Колор, 200 г/л ВС для обработки семян зерновых и зернобобовых культур, проса, рапса и риса при норме расхода 1,5—2,5 кг/т.

Карбендазим широко используется для приготовления смесевых препаратов.

2. Методика определения остаточных количеств Беномила в виде Карбендазима и Карбендазима в воде, почве, семенах рапса (горчицы) и подсолнечника, клубнях картофеля, корнеплодах сахарной свеклы, яблоках, зеленой массе растений, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении Беномила в виде Карбендазима и Карбендазима методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после их экстракции (с одновременным гидролизом Беномила до Карбендазима) из образцов органическим растворителем, очистки путем перераспределения между двумя несмешивающимися фазами. Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

2.1.2.1. 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	диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/л)	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S	доверительный интервал среднего результата, %, ±
1	2	3	4	5	6
Беномил					
Вода	0,05	0,05—0,5	93,9	2,41	1,12
Почва	0,05	0,05—0,5	90,6	2,50	1,17
Семена подсолнечника	0,075	0,075—0,75	82,4	2,99	0,86
Семена рапса и горчицы	0,15	0,15—1,5	87,1	3,91	1,82
Картофель (клубни)	0,075	0,075—0,75	82,5	2,99	0,86
Яблоки (плоды)	0,075	0,075—0,75	82,2	2,78	1,30

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
Сахарная свекла (корнеплоды)	0,075	0,075—0,75	88,2	2,43	1,14
Зерно пшеницы	0,15	0,15—1,5	84,1	1,74	0,82
Солома пшеницы	0,15	0,15—1,5	82,8	2,19	1,02
Карбендазим					
Вода	0,05	0,05—0,5	93,9	2,41	1,13
Почва	0,05	0,05—0,5	90,6	2,50	1,17
Семена рапса (горчицы)	0,1	0,1—1,0	87,1	3,90	1,83
Семена подсолнечника	0,05	0,05—0,5	82,4	2,73	1,28
Картофель (клубни)	0,05	0,05—0,5	82,5	2,41	1,13
Яблоки (плоды)	0,05	0,05—0,5	82,2	2,78	1,30
Сахарная свекла (корнеплоды)	0,05	0,05—0,5	88,2	2,43	1,14
Зерно пшеницы	0,1	0,1—1,0	84,1	1,74	0,82
Солома пшеницы	0,1	0,1—1,0	82,8	2,19	1,02

Таблица 2

Полнота определения Карбендазима в воде, почве, семенах рапса (горчицы) и подсолнечника, клубнях картофеля, корнеплодах сахарной свеклы, яблоках, зеленой массе растений, зерне и соломе зерновых колосовых культур (5 повторностей для каждой концентрации)

Среда	Добавлено, мг/кг (мг/л)	Обнаружено, мг/кг (мг/л)	Доверительный интервал, ±	Полнота определения, %
1	2	3	4	5
Вода	0,05	0,048	0,001	96
	0,1	[illegible]	0,003	93
	0,2	84	0,003	92
	0,5	0,457	0,014	91,4
среднее				93,1

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5
Почва	0,05	0,045	0,0009	90
	0,1	0,093	0,001	93
	0,25	0,226	0,007	90
	0,5	0,444	0,012	88,8
среднее				90,5
Семена рапса (горчицы)	0,1	0,093	0,001	93,0
	0,2	0,173	0,0006	86,6
	0,5	0,426	0,01	85,2
	1,0	0,836	0,03	83,6
среднее				87,1
Семена подсолнечника	0,05	0,041	0,0008	82
	0,1	0,081	0,0016	81
	0,2	0,161	0,0036	80,5
	0,5	0,431	0,0041	86,2
среднее				82,4
Картофель (клубни)	0,05	0,041	0,0015	82
	0,1	0,084	0,0011	84
	0,2	0,160	0,0059	80
	0,5	0,420	0,0093	84
среднее				82,5
Яблоки (плоды)	0,05	0,042	0,0015	84
	0,1	0,080	0,0024	80
	0,2	0,162	0,0055	81
	0,5	0,419	0,0059	83,8
среднее				82,2
Сахарная свекла (корнеплоды)	0,03	0,0273	0,0007	91
	0,06	0,053	0,0011	88,3
	0,12	0,104	0,0031	86,7
	0,3	0,260	0,0014	86,7
среднее				88,2
Зерно пшеницы	0,1	0,086	0,0021	86
	0,2	0,168	0,0022	84
	0,5	0,416	0,0078	83,2
	1,0	0,830	0,0174	83
среднее				84,1

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5
Солома пшеницы	0,2	0,169	0,0037	84,5
	0,4	0,338	0,0056	84,5
	1,0	0,813	0,0128	81,3
	2,0	1,62	0,0421	81,0
среднее				82,8

2.1.3. Избирательность метода

В прилагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании масличных и зерновых культур, яблок, картофеля и сахарной свеклы.

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Карбендазим, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,4 %, фирма Хиноин
Ацетонитрил — ТУ 6-09-3534—87
Вода бидистиллированная*, деионизированная — ГОСТ 7602—72
Гексан, ч — ТУ 6-09-3375
Гелий, осч
Натрий серно-кислый, безводный, хч — ГОСТ 4166—76
Гидроксид натрия — ГОСТ 4328—77
Гидроксид натрия, 2 % водный раствор
Гидроксид натрия, 10 % водный раствор
Соляная кислота, конц. — ГОСТ 857—88
Соляная кислота, 0,1н водный раствор
Этиловый эфир уксусной кислоты** — ГОСТ 223000—76
Подвижная фаза для ВЭЖХ:
ацетонитрил – 300 мл; вода очищенная* – 700 мл (Symmetry Shield RP8, Symmetry Shield RP18);
ацетонитрил – 250 мл; вода очищенная* – 700 мл (или Zorbax SB-C18)
Фильтры бумажные, «красная лента» — ТУ 6-09-1678—86

---

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

** Этиловый эфир уксусной кислоты кипятят в течение 1 часа с прокаленным сульфатом магния, добавленным из расчета 20—25 г/л и затем перегоняют.

Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями 20 мкм, фирма Уотерс	

2.2.2. Приборы и оборудование

Хроматограф жидкостной Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не выше 0,0025 единиц адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа	
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Symmetry Shield RP8, зернением 5 мкм или Symmetry Shield RP18, зернением 5 мкм или Zorbax SB-C18, зернением 5 мкм	
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, 500 и 1500 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 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; 5,0; 10,0 и 25,0 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
Цилиндры мерные	
Центрифужные стаканы, объемом 250 мл	

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Колонку Symmetry Shield RP8, Symmetry Shield RP18 или Zorbax SB-C18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при t° = 25 °С и скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин в течение 3—4 часов.

2.3.2. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают 20 мг Карбендазима в мерной колбе объемом 100 мл. Навеску растворяют в метаноле (в ультразвуковой ванне) и доводят объем до метки ацетонитрилом (стандартный раствор № 1, концентрация Карбендазима 200 мкг/мл). Затем 10 мл стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой в мерную колбу объемом 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании (стандартный раствор № 2, концентрация Карбендазима – 20 мкг/мл). Стандартные растворы №№ 1 и 2 можно хранить в холодильнике в течение 3-х и 1-го месяцев соответственно. Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 10,0; 5,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,2 мкг/мл вещества и используют эти растворы для построения калибровочного графика и внесения в контрольный образец при отработке методики.

2.3.3. Приготовление подвижной фазы для жидкостной хроматографии

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 300 мл ацетонитрила и 700 мл воды (для проведения анализов на колонке Symmetry Shield RP8 и Symmetry Shield RP18) и 250 мл ацетонитрила и 700 мл воды (для проведения анализов на колонке Zorbax SB-C18). 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 полученных четырех растворов (с концентрацией Карбендазима 2,0; 1,0; 0,5; 0,2 мкг/мл). Измеряют площади пиков, рассчитывают среднее значение площади пика для ка-

ждой концентрации и строят график зависимости площади пика от концентрации Карбендазима (мкг/мл).

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 зерна и соломы подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при комнатной температуре. Пробы клубней картофеля, плодов яблок, корнеплодов сахарной свеклы замораживают и хранят при температуре –18 °С. 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, семена рапса и горчицы измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Описание определения

2.5.1. Вода

Пробу воды объемом 100 мл помещают в делительную воронку емкостью 250 мл, добавляют 2,0 мл 2 % водного раствора гидроксида калия (до pH 10) и экстрагируют 30 мл этилацетата, встряхивая воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний органический слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, при необходимости доводят 2 % водным раствором гидроксида калия до pH 10 и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 30 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10). Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают. Этилацетат собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия, осушитель обмывают еще 10 мл этилацетата, которые объединяют с экстрактом. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Остаток растворителя отдувают холодным воздухом до полного исчезновения запаха этилацетата.

Сухой остаток растворяют в 10—25 мл ацетонитрила и 20 мкл раствора вводят в хроматограф.

2.5.2. Почва

Образец почвы массой 20 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, добавляют 10 мл дистиллированной воды, встряхивают колбу до полного смешивания и дают выстоятся в течение 10 мин. Затем в колбу прибавляют 50 мл этилацетата и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 30 мин. Экстракт переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 500 об./мин 5 мин. Супернатант фильтруют в делительную воронку объемом 250 мл через фильтр «красная лента». Карбендазим экстрагируют еще 2 раза, используя по 50 мл этилацетата в течение 30 мин с обязательным последующим центрифугированием. Экстракты объединяют в делительной воронке объемом 250 мл. Верхний этилацетатный слой оставляют в воронке, выделившийся нижний водный – отбрасывают. Из объединенного экстракта Карбендазим экстрагируют трижды, используя по 50 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний водный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл, добавляют 10 % гидроксида калия до pH 10 и экстрагируют 50 мл этилацетата, встряхивая воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний этилацетатный слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, доводят 10 % раствором гидроксида калия до pH 10 и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 50 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10, добавляют 5 мл 10 % Гидроксида калия при каждой экстракции). Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают. Этилацетат собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия, осушитель обмывают еще 10 мл этилацетата, который объединяют с экстрактом. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Остаток растворителя отдувают холодным воздухом до полного исчезновения запаха этилацетата. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.3. Семена рапса (горчицы)

Образец размолотых семян массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 10 мл дистиллированной воды, встряхивают колбу до полного смешивания и дают выстоятся в течение 10 мин. Затем в колбу прибавляют 50 мл этилацетата и встряхивают на

механическом встряхивателе в течение 1 часа. Экстракт переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 500 об./мин 5 мин. Супернатант фильтруют в колбу объемом 250 мл через фильтр «красная лента» и помещают в холодильник. Остаток после центрифугирования заливают 50 мл этилацетата, встряхивают на механическом встряхивателе в течение 15 мин и оставляют на ночь при комнатной температуре. Утром смесь встряхивают в течение 15 мин на механическом встряхивателе, экстракт переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2 500 об./мин 5 мин. Супернатант фильтруют через фильтр «красная лента» и объединяют с первым экстрактом в колбе. Карбендазим экстрагируют еще раз, используя 50 мл этилацетата в течение 30 мин с обязательным последующим центрифугированием. Экстракты объединяют в делительной воронке объемом 500 мл. Выделившийся нижний водный слой отбрасывают. Из объединенного экстракта Карбендазим экстрагируют трижды, используя по 50 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой собирают и объединяют в химическом стакане объемом 200 мл, добавляют 50 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают.

К водному слою добавляют 50 мл гексана и операцию повторяют еще раз. Затем к водной фазе добавляют 10 % водного раствора гидроксида калия до pH 10 и экстрагируют Карбендазим 50 мл этилацетата, встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний этилацетатный слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, доводят 10 % раствором гидроксида калия до pH 10 и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 50 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10, добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия при каждой экстракции). Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают.

Из объединенного этилацетатного экстракта Карбендазим реэкстрагируют трижды, используя по 30 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин. Каждый раз после полного разделения слоев нижний водный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл, объединяя водную фазу. Этилацетатную фазу отбрасывают.

Переносят водную фракцию в делительную воронку, добавляют в нее 10 % водного раствора гидроксида калия до pH 10 и экстрагируют Карбендазим 30 мл этилацетата, встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний этилацетатный слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, при необходимости прибавляют 10 % гидроксида калия до pH 10 и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 30 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10, добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия при каждой экстракции). Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают. Этилацетат собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия, осушитель обмывают еще 10 мл этилацетата и объединяют с экстрактом. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С. Остаток растворителя отдувают холодным воздухом до полного исчезновения запаха этилацетата. Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.4. Картофель (клубни), яблоки (плоды), корнеплоды сахарной свеклы

Образец измельченных клубней картофеля массой 20 г (для плодов яблок навеска – 10 г) помещают в коническую колбу объемом 250 мл. Затем в колбу прибавляют 30 мл этилацетата и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 0,5 часа. Экстракт фильтруют в колбу объемом 250 мл через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще 2 раза порциями по 30 мл этилацетата, встряхивая на механическом встряхивателе в течение 0,5 часа. Экстракты объединяют в делительной воронке объемом 250 мл.

Из объединенного экстракта Карбендазим экстрагируют трижды, используя по 30 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой собирают и объединяют в химическом стакане объемом 200 мл, переносят в делительную воронку, добавляют 50 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. К водному слою добавляют 50 мл гексана и операцию повторяют еще раз.

Затем к водной фазе добавляют 10 % водного раствора гидроксида калия (до pH 10) и экстрагируют Карбендазим 30 мл этилацетата, встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в

воронке верхний органический слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, доводят 10 % раствором гидроксида калия до pH 10 и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 30 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10, добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия при каждой экстракции). Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают.

Из объединенного экстракта Карбендазим экстрагируют трижды, используя по 30 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл, добавляют 10 % водного раствора гидроксида калия до pH 10 и реэкстрагируют вещество 30 мл этилацетата, встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний органический слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, доводят 10 % раствором гидроксида калия до pH 10 и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 30 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10, добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия при каждой экстракции). Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают. Этилацетат собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия, осушитель обмывают еще 10 мл этилацетата и объединяют с экстрактом. Объединенный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре *не выше 30 °С*. Остаток растворителя отдувают холодным воздухом до полного исчезновения запаха этилацетата. Сухой остаток растворяют в 2,5 (яблоки); 3 (сахарная свекла); 5 (картофель) мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.5. Зерно пшеницы

Образец размолотого зерна массой 10 г помешают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 5 мл дистиллированной воды и выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем в колбу прибавляют 50 мл этилацетата и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 0,5 часа. Экстракт фильтруют в колбу объемом 250 мл через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще 2 раза порциями по 50 мл этилацетата, встряхивая на механическом

встряхивателе в течение 0,5 часа. Экстракты объединяют в делительной воронке объемом 250 мл.

Из объединенного экстракта Карбендазим экстрагируют трижды, используя по 50 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой собирают и объединяют в химическом стакане объемом 200 мл, переносят в делительную воронку, добавляют 50 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают. К водному слою добавляют 50 мл гексана и операцию повторяют еще раз. Затем к водной фазе добавляют 10 % водного раствора гидроксида калия (до pH 10) и экстрагируют Карбендазим 50 мл этилацетата, встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний органический слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, доводят 10 % раствором гидроксида калия до pH 10 (добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия) и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 30 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10, добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия при каждой экстракции). Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают.

Из объединенного экстракта Карбендазим экстрагируют трижды, используя по 30 мл 0,1 н соляной кислоты, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин. После полного разделения слоев нижний водный слой собирают в химический стакан объемом 200 мл, добавляют 10 % раствора гидроксида калия до pH 10 (добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия) и экстрагируют 30 мл этилацетата, встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения фаз в воронке верхний органический слой сливают в химический стакан. Нижний водный слой возвращают в делительную воронку, проверяют pH водной фазы, прибавляют 10 % гидроксида калия до pH 10 и повторяют экстракцию этилацетатом еще 2 раза порциями по 30 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 2 мин (при этом pH водной фазы всегда должен быть не менее 10, добавляют 5 мл 10 % гидроксида калия при каждой экстракции).

Этилацетатный экстракт объединяют в химическом стакане, после чего переносят в делительную воронку и выделившийся водный (нижний) слой отбрасывают. Этилацетат собирают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия, осушитель обмывают еще 10 мл этилацетата и объединяют с экстрактом. Объединенный экстракт

упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре *не выше 30 °С*. Остаток растворителя отдувают холодным воздухом до полного исчезновения запаха этилацетата. Сухой остаток растворяют в 2,5 (яблоки, солома); 3 (сахарная свекла); 5 (картофель, зерно) мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.6. Солома пшеницы

Образец размолотой соломы массой 5 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 5 мл дистиллированной воды и выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем в колбу прибавляют 75 мл этилацетата и помещают на 10 мин в ультразвуковую ванну, после чего дополнительно встряхивают на механическом встряхивателе в течение 5 мин. Экстракт фильтруют в колбу объемом 250 мл через фильтр «красная лента». Экстракцию повторяют еще 2 раза порциями по 50 мл этилацетата по 10 мин в ультразвуковой ванне и дополнительно по 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракты объединяют в делительной воронке объемом 250 мл.

Далее поступают как указано в пункте 2.5.5. Зерно пшеницы, начиная со второго абзаца со слов «Из объединенного экстракта Карбендазим экстрагируют трижды, используя по 50 мл 0,1 н соляной кислоты...».

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

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

Колонка стальная, Symmetry Shield RP8, 4,6 мм × 25 см, зернением 5 мкм.

Температура колонки	25 °С.
Подвижная фаза	ацетонитрил–вода в соотношении 30 : 70, по объему.
Скорость потока элюента	1 мл/мин.
Рабочая длина волны	260 нм.
Чувствительность	0,0025 ед. оптической плотности на шкалу.
Объем вводимой пробы	20 мкл.
Время удерживания Карбендазима	7,172—7,926 мин (для метода определения остаточных количеств в семенах рапса); 7,629—8,101 мин (для метода определения остаточных количеств в воде и почве).

Альтернативная колонка:

Колонка стальная, Symmetry Shield RP18, 4,6 мм × 25 см, зернение 5 мкм.

Температура колонки	25 °С.
Подвижная фаза	ацетонитрил–вода в соотношении 30 : 70 по объему.
Скорость потока элюента	1 мл/мин.
Рабочая длина волны	280 нм.
Чувствительность	0,01 ед. оптической плотности на шкалу.
Объем вводимой пробы	20 мкл.
Время удерживания Карбендазима	6,438—6,836 мин.
Линейный диапазон детектирования	2—20 нг.

Альтернативная колонка:

Колонка стальная, Zorbax SB-C18, 4,6 мм × 25 см, зернение 5 мкм.

Температура колонки	25 °С.
Подвижная фаза	ацетонитрил–вода в соотношении 25 : 70 по объему.
Скорость потока элюента	1 мл/мин.
Рабочая длина волны	280 нм (Zorbax SB-C18).
Чувствительность	0,005 ед. оптической плотности на шкалу (Zorbax SB-C18).
Объем вводимой пробы	20 мкл.
Линейный диапазон детектирования	2—20 нг.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Содержание Карбендазима рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Карбендазима 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 Карбендазима 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