

## УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный врач  
Российской Федерации  
Первый заместитель министра здравоохранения  
Российской Федерации  
Г.Г.ОНИЩЕНКО

24 июня 2003 г.

МУХ 4.1.1473-03

Дата введения: 30 июня 2003 г.

### МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств десмедифама и фенмедифама  
в корнеплодах и ботве сахарной, столовой и кормовой свеклы  
методом капиллярной газожидкостной хроматографии

#### 1. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

Название препарата: Битал АМ, Скибетан Прогресс ОФ, Бифор Прогресс.

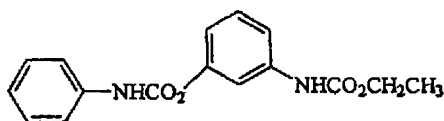
Фирма производитель: ФМРус, РосАгроХим, АгроЭксперт групп.

Действующие вещества: десмедифам и фенмедифам.

1. Десмедифам (ISO).

3-этоксикарбониламинофенил фенилкарбамат (IUPAC).

Структурная формула:



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

Молекулярная масса: 300,3.

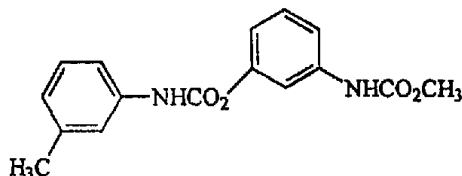
Химически чистое вещество: бесцветные кристаллы. Температура плавления: 120°C.

Растворимость (г/1000мл) при 20°C: в воде – 0,007, ацетоне – 400, метаноле – 180, этилацетате – 149, хлороформе – 80, дихлорметане – 17,8, бензоле – 1,6, гексане – 0,5.

2. Фенмедифам (ISO).

3-метоксикарбониламинофенил 3'-метилкар-банилат (IUPAC).

Структурная формула:



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

Молекулярная масса: 300,3.

Химически чистое вещество: бесцветные кристаллы. Температура плавления: 140-144°C.

Растворимость (г/1000мл) при 20°C: в воде – 0,006, ацетоне – 200, метаноле – 50, этилацетате – 56,3, хлороформе – 20, дихлорметане – 16,7, бензоле – 2,5, гексане – 0,5.

Гигиенические нормативы: ВМДУ десмедифама в свекле сахарной, столовой и кормовой – 0,1 мг/кг; МДУ фенмедифама в свекле сахарной, столовой и кормовой 0,2 мг/кг.

Область применения препарата: послевсходовый гербицид для борьбы с однолетними двудольными и некоторыми злаковыми сорными растениями на свекле.

## 2. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕСМЕДИФАМА И ФЕНМЕДИФАМА В КОРНЕПЛОДАХ И БОТВЕ САХАРНОЙ, СТОЛОВОЙ И КОРМОВОЙ СВЕКЛЫ

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении остаточных количеств десмедифама и фенмедифама из анализируемого объекта ацетоном, проведении очистки экстракта перераспределением в системе растворителей, получении производных путем гидролитического расщепления десмедифама в анилин, а фенмедифама в метиланилин, их бромировании и газохроматографическом анализе с использованием капиллярной колонки и детектора электронного захвата (ДЭЗ).

#### 2.1.2. Избирательность метода.

Метод специфичен в присутствии других применяемых пестицидов. Проведение очистки экстрактов, а также использование селективного детектора и капиллярной колонки позволяет устранять влияние на анализ коэкстрактивных веществ.

#### 2.1.3. Метрологическая характеристика метода.

Метрологические параметры метода представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Метрологические параметры, $p=0,95$ , $n=6$					
Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, %	Доверительный интервал среднего результата, %
Корнеплоды	0,02	0,02 - 0,16	82,7	6,1	$\pm 5,6$
Ботва	0,02	0,02 - 0,16	85,3	4,7	$\pm 4,3$

Таблица 2.

Полнота определения десмедифама и фенмедифама в корнеплодах и ботве свеклы  
( $n = 6$  для каждой концентрации).

Анализируемый объект	Внесено, мг/кг	Найдено, мг/кг	Стандартное отклонение, $\pm$	Полнота определения, %
Корнеплоды свеклы	0,020	0,015	0,0015 (7,3%)	77,0
	0,040	0,032	0,0026 (6,4%)	80,8
	0,080	0,068	0,0045 (5,6%)	85,0
	0,160	0,141	0,0082 (5,1%)	88,2
Ботва свеклы	0,020	0,016	0,0011 (5,4%)	80,7
	0,040	0,033	0,0019 (4,9%)	83,3
	0,080	0,069	0,0036 (4,5%)	86,7
	0,160	0,145	0,0064 (4,0%)	90,5

## 2.2. Реактивы, материалы

Аналитические стандарты десмедифама и фенмедифама.

Азот газообразный высокой чистоты, ТУ 301-07-25-89.

Ацетон, осч, ТУ 2633-004-11291058-94.

Вода дистиллированная и перегнанная над  $\text{KMnO}_4$  и щелочью.

Калий бромистый, ч, ГОСТ 4160-74.

Калий бромноватокислый, ч, ГОСТ 4457-74.

Калия гидроокись, чда, ГОСТ 24363-80.

Кислота серная, хч, ГОСТ 4204-77.

Натрий сернистокислый (сульфит), чда, ГОСТ 195-77.

Натрий сернокислый б/в (сульфат), чда, ГОСТ 4166-76.

Натрий хлористый, чда, ГОСТ 4233-77.

Этиленгликоль, чда, ГОСТ 10164-75.

Эфир этиловый (серный), ГОСТ ФС 42-3643-98.

Фильтры бумажные, красная лента, ТУ 2642-001-42624157-98.

Фильтры бумажные, белая лента, ТУ 2642-001-42624157-98.

## 2.3. Приборы, аппаратура, посуда.

Газовый хроматограф с ДЭЗ и хроматографической колонкой капиллярной кварцевой длиной 15 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой SE-52, толщиной слоя 0,4 мкм.

**Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081-73 или аналогичный.**

**Весы аналитические типа ВЛА-200, ГОСТ 34104-80.**

**Весы лабораторные типа ВЛКТ-500, ГОСТ 24104-80.**

**Воронки делительные емкостью 500 мл, ГОСТ 25336-82.**

**Воронки для фильтрования стеклянные, ГОСТ 25336-82.**

**Инструментарий для первичной подготовки проб к определению ( нож, ножницы, шпатели, кюветы и др.).**

**Колбы-концентраторы емкостью 100, 250 мл, ГОСТ 25336-82.**

**Колбы плоскодонные емкостью 300 мл, ГОСТ 25336-82.**

**Колбы мерные со шлифом емкостью 25, 100 мл, ГОСТ 1770-74.**

**Микрошприц МШ-10, ТУ 2-833-106.**

**Насос водоструйный, ГОСТ 10696-75.**

**Приспособление для обжима колпачков на флаконах, ТУ 42-2-2442-73.**

**Ротационный вакуумный испаритель типа ИР-1 или аналогичный.**

**Пипетки мерные емкостью 1, 2, 5 и 10 мл, ГОСТ 20292-74.**

**Стаканы химические емкостью 500 мл, ГОСТ 25336-82.**

**Установка для перегонки растворителей при атмосферном давлении.**

**Установка для упаривания растворителей в токе азота.**

**Установка ультразвуковая "Серьга" УЗМ002 или аналогичная.**

**Флаконы стеклянные (типа пенициллиновых) емкостью 20,0 мл.**

**Шкаф сушильный, ТУ 64-1-1411-76.**

**Электроплитка, ГОСТ 14919-83.**

## **2.4. Подготовка к определению**

### **2.4.1. Очистка органических растворителей и воды.**

Перед началом работы рекомендуется проверить чистоту применяемых органических растворителей. Для этого 100 мл растворителя упаривают в ротационном испарителе при температуре 40°C до объема 1,0 мл и хроматографируют. При обнаружении мешающих определению примесей очистку растворителей производят в соответствии с общепринятыми методиками.

В обязательном порядке проводят дополнительную очистку воды, используемой при обработке проб к проведению определения. Для этого 150 мл (из расчета обработки 1 пробы) дистиллированной воды, перегнанной над КМпО<sub>4</sub> и щелочью, помещают в делительную воронку емкостью 500 мл. В воронку вносят 50 мл насыщенного водного

раствора хлористого натрия, 1,0 мл 10% водного раствора гидроокиси калия и после перемешивания 50 мл этилового эфира. Содержимое воронки встряхивают в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний водно-солевой слой сливают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, а верхний эфирный слой отбрасывают. К водно-солевой фракции, находящейся в колбе, добавляют (до pH 3-4) ~ 1,5 мл 5% водного раствора серной кислоты. Содержимое колбы перемешивают встряхиванием, переносят в делительную воронку емкостью 500 мл и добавляют 50 мл этилового эфира. Содержимое воронки встряхивают в течение 2-х минут. После разделения слоев нижний водно-солевой слой сливают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, а верхний эфирный слой отбрасывают. Очищенный водно-солевой раствор используют при обработке пробы к проведению определения по п. 2.6.

#### **2.4.2. Приготовление щелочного этиленгликоля.**

В мерной колбе емкостью 25 мл растворяют 1,0 г гидроокиси калия в 1,0 мл дистиллированной воды и доводят объем до 25 мл этиленгликолем.

#### **2.4.3. Приготовление стандартных растворов десмедифама и фенмедифама.**

Основные растворы десмедифама и фенмедифама с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением в ацетоне 0,01 г каждого препарата в мерных колбах на 100 мл. Растворы хранят в холодильнике при 4-6°C не более 3-х месяцев.

Смеси рабочих стандартных растворов десмедифама и фенмедифама с концентрациями 4,0, 2,0, 1,0 и 0,5 мкг/мл готовят во флаконах емкостью 20 мл (типа пенициллиновых) из основных стандартных растворов соответствующим последовательным разбавлением ацетоном. Ацетон упаривают в токе азота досуха и проводят гидролиз стандартных веществ с получением их бромпроизводных по п. 2.6.2.

Экстракты, приготовленные по п. 2.6.2 для построения калибровочного графика, хранят в холодильнике при 4-6°C не более месяца.

#### **2.4.4. Построение калибровочного графика.**

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 1 мкл приготовленных по пп. 2.4.3. и 2.6.2. экстрактов, содержащих смеси стандартных растворов десмедифама и фенмедифама (в виде бромпроизводных) с концентрациями 0,5, 1,0, 2,0 и 4,0 мкг/мл. Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений и находят среднее значение высоты (площади) хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты (площади) хроматографического пика в мм (мм<sup>2</sup>) от концентрации десмедифама и фенмедифама в растворе в мкг/мл.

## 2.5. Отбор и хранение проб

Отбор проб для анализа проводят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными 21.08.1979г., № 2051-79.

Для длительного хранения пробы помещают в морозильную камеру с температурой  $-18^{\circ}\text{C}$ .

## 2.6. Проведение определения

### 2.6.1. Экстракция десмедифама и фенмедифама

Аналитическую пробу корнеплодов или ботвы массой  $25,0 \pm 0,1$  г помещают в плоскодонную колбу емкостью 300 мл, добавляют 150 мл ацетона, слегка встряхивают и подвергают обработке ультразвуком в УЗ-бане два раза по 5 мин. Ацетоновый экстракт фильтруют через бумажный фильтр красная лента в колбу-концентратор емкостью 250 мл. Внутренние стенки колбы с пробой ополаскивают 20 мл ацетона и экстрагент фильтруют в колбу-концентратор.

При использовании аппарата для встряхивания в плоскодонную колбу с аналитической пробой массой  $25,0 \pm 0,1$  г вносят 150 мл ацетона и содержимое колбы встряхивают в течение 60 мин. После этого экстракт фильтруют через бумажный фильтр красная лента в колбу-концентратор емкостью 250 мл. Внутренние стенки колбы с пробой ополаскивают 20 мл ацетона и экстрагент фильтруют в колбу-концентратор.

Колбу-концентратор с объединенным экстрактом устанавливают в ротационный вакуумный испаритель и упаривают ацетон при температуре  $40^{\circ}\text{C}$  до объема экстракта 20-30 мл. К остатку экстракта в колбе добавляют 200 мл водно-солевого раствора, приготовленного по п. 2.4.1. Содержимое колбы-концентратора фильтруют через бумажный фильтр белая лента в делительную воронку емкостью 500 мл. Затем в делительную воронку вносят 50 мл этилового эфира, содержимое воронки встряхивают в течение 2-х минут и после разделения слоев нижний водно-солевой слой сливают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, а верхний эфирный слой в колбу-концентратор емкостью 100 мл. Процедуру экстрагирования десмедифама и фенмедифама из водно-солевого раствора повторяют с использованием 25 мл этилового эфира.

Колбу-концентратор с объединенным эфирным экстрактом устанавливают в ротационный испаритель и упаривают этиловый эфир при температуре  $40^{\circ}\text{C}$  до объема экстракта 10-15 мл. Остаток экстракта количественно переносят во флакон (типа пенициллинового) емкостью 20 мл и упаривают этиловый эфир в токе азота.

#### 2.6.2. Проведение гидролиза и бромирования производных десмедифама и фенмедифама.

К остатку во флаконе прибавляют 1 мл щелочного этиленгликоля, приготовленного по п. 2.4.2., флакон герметизируют и термостатируют при  $150^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. После охлаждения во флакон последовательно добавляют 10 мл 1н водного раствора серной кислоты, 0,25 мл 20% раствора (в 1н водном растворе серной кислоты) бромистого калия и 0,25 мл 1% водного раствора бромноватокислого калия (хранят в темноте). Содержимое флакона перемешивают, флакон закрывают пробкой и выдерживают в темноте 15 мин. После этого во флакон последовательно добавляют небольшое количество ("на кончике шпателя") порошкообразного сульфата натрия до обесцвечивания содержимого, 1,0 мл 50% водного раствора гидрокси калия и после перемешивания - 2,5 мл толуола. Флакон закрывают пробкой, интенсивно встряхивают в руке и оставляют в покое на 10-15 минут до разделения слоев содержимого флакона. Аликвотную часть верхнего толуольного слоя хроматографируют по п. 2.7.

В том случае, если через 10-15 минут верхний толуольный слой остается мутным, аликвотную его часть (1,5-2,0 мл) пропускают через слой (толщина 0,3-0,5 см) безводного сульфата натрия и затем анализируют на содержание десмедифама и фенмедифама по п.2.7.

### 2.7. Условия хроматографирования

Газовый хроматограф с ДЭЗ.

Колонка хроматографическая капиллярная длиной 15 м, внутренним диаметром 0,32 мм с неподвижной фазой SE -52 толщиной слоя 0,4 мкм.

Температура колонки с программированием от  $80^{\circ}\text{C}$  (3 мин) до  $280^{\circ}\text{C}$  (15 мин) со скоростью  $10^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ .

Температура испарителя:  $250^{\circ}\text{C}$ .

Температура детектора:  $300^{\circ}\text{C}$ .

Расход газов: газа-носителя (азот в/ч) -  $2,0 \text{ см}^3/\text{мин}$ , дополнительного газа (азот в/ч) к ДЭЗ -  $40 \text{ см}^3/\text{мин}$ .

Объем хроматографируемой пробы: 1 мкл.

Время удерживания: десмедифама (в виде бромпроизводного) -  $14,3 \pm 0,1$  мин. фенмедифама (в виде бромпроизводного) -  $15,9 \pm 0,1$  мин.

Линейный диапазон детектирования (по бромпроизводным): 0,25-8,0 нг.

## 2.8. Обработка результатов анализа.

Содержание десмедифама или фенмедифама рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{N_1 \times A \times V}{N_0 \times m}, \text{ где:}$$

X – содержание десмедифама или фенмедифама в пробе, мг/кг;

$N_1$  – высота (площадь) пика анализируемого вещества, мм ( $\text{мм}^2$ ),

$N_0$  – высота (площадь) пика стандартного вещества, мм ( $\text{мм}^2$ ),

A – концентрация смеси стандартных растворов десмедифама и фенмедифама, мкг/мл,

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл,

m – масса (г) аналитической пробы.

## 3. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ.

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости результатов измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335-95 "Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа".

## 4. ТРЕБОВАНИЯ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ.

Необходимо соблюдать общепринятые правила техники безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами и сжатыми газами, а также требования, изложенные в документации к приборам.

## 5. РАЗРАБОТЧИКИ.

П.А. Тарарин, Т.А. Маханькова, Л.В. Григорьева (ВНИИ защиты растений).