Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.2048—4.1.2061—06

Издание официальное

Москва, 2009

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О37

О37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009 — 148с.

1. Сборник подготовлен Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); при участии специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

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

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 9,25

Тираж 100 экз.

Тиражировано отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

Содержание

1. Методические указания по определению остаточных количеств сульфометурон-метила в воде и почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2048-06.....4
2. Методические указания по измерению концентраций глифосата в атмосферном воздухе населенных мест методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2049-06.....17
3. Методические указания по измерению концентраций Карбосульфана в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2050-06.....28
4. Методические указания по измерению концентраций тефлутрина в воздухе рабочей зоны методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2051-06.....35
5. Определение остаточных количеств метальдегида в воде, почве, овощах (капуста, салат, Китайская капуста, шпинат, редис и др.), фруктах (яблоки, сливы и др.), ягодах (земляника, смородина и др.) и винограде методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2052-06.....44
6. Методические указания по определению остаточных количеств метамитрона в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2053-06.....58
7. Методические указания по определению остаточных количеств Прохлораза в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2054-06.....67
8. Методические указания по определению остаточных количеств флудиоксонила в зерне и масле сои методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2055-06.....80
9. Методические указания по определению остаточных количеств оксифлуорфена в семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2056-06.....91
10. Методические указания по определению остаточных количеств карбоксина в клубнях картофеля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2057-06.....101
11. Методические указания по определению остаточных количеств флуазифоп-п-бутила в семенах и масле рапса, подсолнечника, зерне и масле сои, зерне гороха и луке по основному метаболиту флуазифоп-п кислоте методом капиллярной газожидкостной хроматографии. МУК 4.1.2058-06.....109
12. Методические указания по определению остаточных количеств прометрина в семенах и масле подсолнечника и сои, зерне и масле кукурузы, зерне гороха, клубнях картофеля и корнеплодах моркови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2059-06.....117
13. Методические указания по определению остаточных количеств никосульфурона в масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2060-06.....126
14. Методические указания по определению остаточных количеств абамектина в ягодах и соке винограда, перце и баклажанах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. МУК 4.1.2061-06.....137

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации,
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Г.Г. Онищенко
МУК 4.1.2007-06
«10» апреля 2006 г.

Дата введения: с 1 мая 2006 г.

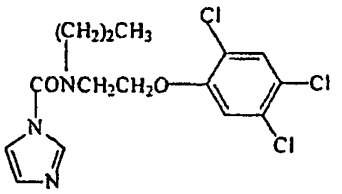
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств Прохлораза в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур массовой концентрации Прохлораза в диапазоне 0.025-0.25 мг/кг, 0.15-1.5 мг/кг, 0.025- 0.25 мг/кг, 0.05-0.5 мг/кг соответственно.

Прохлораз - действующее вещество препарата Мираж, КЭ (450 г/л), фирма производитель: Мактешим-Аган.

N-пропил-N-[2-(2,4,6-трихлорофенокси)-этил]имидазол-1-карбоксамид



$C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$

Мол. масса: 376.7

Химически чистый Прохлораз представляет собой бесцветный кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления - 46.5-49.30 С °.

64

Давление паров 90 мПа (при 20 С °).

Коэффициент распределения октанол-вода Kow log P 4.12 (неионизированный).

Прохлораз - слабое основание, рКа – 3.8.

Растворимость в воде - 34,4 мг/л(25 С °).

Хорошо растворим в хлороформе, диэтиловом эфире; в толуоле- 2,5, ацетоне- 3,5, гексане- 7,5х10-3 (кг/л, 25 С °).

Стабилен в водных растворах с pH 7 при 20 С °. Разрушается в концентрированных кислотах и щелочах, на свету или при продолжительном нагревании при 20 С °.

Период полураспада в почве в полевых условиях – 5 – 37 дней.

Краткая токсикологическая характеристика:

Прохлораз относится к малоопасным веществам по острой (острая пероральная токсичность, $ЛД_{50}$ для крыс – 1600 - 2400 мг/кг) и дермальной ($ЛД_{50}$ крысы - более 3000 мг/кг) токсичности и умеренно опасным по ингаляционной токсичности ($ЛД_{50}$ (4 часа) более 2600 мг/м^3). Не обладает побочными токсикологическими эффектами, не оказывает раздражающего действия на кожу.

Область применения препарата:

Прохлораз – системный фунгицид защитного и искореняющего действия из группы производных азола, высокоэффективно подавляет развитие возбудителей болезней растений из родов Pseudocercosporella, Pyrenophora, Septoria, Alternaria, Botrytis, Fusarium и др. в посевах зерновых, овощных, технических культур и в плодовых садах при нормах расхода 400 – 600 г д.в. на га.

Зарегистрирован в России под торговым названием Мирэж (45 % к.э.) для применения на зерновых культурах против септориоза, мучнистой росы, фузариоза колоса, сетчатой пятнистости и ринхоспориоза с нормой расхода 1 л/га до двух обработок за сезон.

В России установлены следующие гигиенические нормативы: ОДК в почве (мг/кг) - 0,3, ОДУ в воде водоемов (мг/л) - 0,05 (санитарно-токсикологический), ОБУВ в воздухе рабочей зоны (мг/м3) - 0,1, МДУ в продукции (мг/кг): зерно хлебных злаков - 0,05.

1. Метрологические характеристики метода (P = 0,95, n = 20)

Вода

Предел обнаружения: 0,025 мг/кг

Диапазон определяемых концентраций: 0,025- 0,25 мг/кг

Среднее значение извлечения: 89,9 %

Стандартное отклонение: 0,54 %

Доверительный интервал среднего результата: + 1,13 %

Почва

Предел обнаружения: 0,15 мг/кг

Диапазон определяемых концентраций: 0,15- 1,5 мг/кг

Среднее значение извлечения: 78,3 %

Стандартное отклонение: 0,67 %

Доверительный интервал среднего результата: + 1,40 %

Зерно

Предел обнаружения: 0,025 мг/кг

Диапазон определяемых концентраций: 0,025- 0,25 мг/кг

Среднее значение извлечения: 81,0 %

Стандартное отклонение: 0,40 %

Доверительный интервал среднего результата: + 0,85 %

Солома

Предел обнаружения: 0,05 мг/кг

Диапазон определяемых концентраций: 0,05- 0,5 мг/кг

Среднее значение извлечения: 74,0 %

Стандартное отклонение: 0,53 %

Доверительный интервал среднего результата: + 1,12 %

Таблица 1.

Полнота извлечения Прохлораза из воды, почвы, зерна и соломы пшеницы.

(5 повторностей для каждой концентрации, P.=0,95).

Среда	Внесено Прохлораза, мг/кг (мг/л)	Обнаружено Прохлораза, мг/кг (мг/л)	Полнота определения, %
1	2	3	5
Вода	0.025	0,023 + 0,0006	91,2
	0.05	0,044 + 0,0011	87,6
	0.1	0,091 + 0,0022	90,7
	0.25	0,225 + 0,0068	90,1
среднее			89,9
почва	0.15	0,115 + 0,0007	76,4
	0.30	0,247 + 0,0080	82,3
	1.0	0,765 + 0,0129	76,4
	1.5	1,167 + 0,048	77,8
среднее			78,3
зерно	0.025	0,020 + 0,0006	79,2
	0.05	0,041 + 0,0010	81,6
	0.10	0,081 + 0,0010	81,0
	0.25	0,206 + 0,0046	82,2
среднее			81,0
солома	0.05	0,037 + 0,0006	74,4
	0.10	0,075 + 0,0014	74,8
	0.20	0,154 + 0,0075	76,8
	0.50	0,363 + 0,0136	72,6
среднее			74,6

2. Метод измерений

Методика основана на определении Прохлораза методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, концентрирования экстракта упариванием в вакууме, очистки путем перераспределения между водной и органической фазами. Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

В прилагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании зерновых.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Хроматограф жидкостной "Waters" 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,0025 единиц адсорбции на шкалу	
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 34104-80 Е
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания до 500 г и пределом допустимой погрешности ± 0,038 г	ГОСТ 19491-74
Колбы мерные на 25, 50 и 100 мл	ГОСТ 1770-74
Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50-100 мкл.	Гамильтон
Пипетки мерные на 0,2; 1,0; 5,0; 10,0 и 25,0 мл	ГОСТ 20292-74

Подвижная фаза для ВЭЖХ: ацетонитрил - 750 мл; вода очищенная* – 250 мл.

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Прохлораз, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,6 %, (фирма АгрЕво)	
Ацетонитрил	ТУ 6-09-3534-87
Ацетон	ТУ 6-09-3513-86
Вода бидистиллированная, деионизированная	ГОСТ 7602-72
Гексан, ч.	ТУ 6-09-3375
Гелий, очищенный марки "А",	ТУ-51-940-80
Калий марганцовокислый, ч.д.а	ГОСТ 20490-75
Метилен хлористый	ГОСТ 19433-88
Натрий сернокислый, безводный, х.ч.	ГОСТ 4166-76
Натрий хлористый, х.ч.	ГОСТ 4233-77
Натрий хлористый, насыщенный водный раствор	
Соляная кислота, конц.	ГОСТ 857-88
Соляная кислота, 0.1н водный раствор	

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Ванна ультразвуковая, "Серьга"	ТУ 3.836.008
Водоструйный насос	ГОСТ 10696-75
Воронки делительные на 200 и 500 мл	ГОСТ 25336-82Е
Воронки конические, стеклянные диаметром 30-33 мм	ГОСТ 25336-082Е
Встряхиватель механический	ТУ 64-673М
Колбы конические плоскодонные на 250 и 500 мл	ГОСТ 9737-70
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 2 мкм	
Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 50 и 250 мл, КТУ-100-14/19	ГОСТ 10394-75
Насос водоструйный	ГОСТ 10696-75
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М	ТУ 25-11-917-74
Стаканы стеклянные на 100-500 мл	ГОСТ 25366-80Е
Фильтры бумажные, "красная лента"	ТУ-6-09-1678-86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм,	фирма «Waters»

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на жидкостной хроматограф.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно-допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда по ГОСТ 12.0.004.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе.

К проведению пробоподготовки допускают оператора с квалификацией «лаборант», имеющего опыт работы в химической лаборатории.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

• процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20±5)^{0}С и относительной влажности не более 80%.

• выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к измерению

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии, очистка бидистиллированной воды для приготовления подвижной фазы, приготовление стандартных растворов, приготовление растворов для жидкостной хроматографии (приготовление подвижной фазы), построение калибровочного графика.

7.1. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Колонку 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.

7.2. Очистка бидистиллированной воды для приготовления подвижной фазы

2 литра бидистиллята из дистиллятора наливают в круглодонную колбу объемом 3 – 3,5 л, добавляют в нее 2 марганцовокислого калия и перемешивают жидкость до полного растворения порошка. Колбу помещают на нагреватель, доводят воду до кипения и кипятят в течение 6 часов. По истечении времени колбу подсоединяют к холодильнику и воду перегоняют при постоянной температуре. Подготовленную таким образом воду хранят в темной посуде с хорошо подогнанной пробкой..

7.3. Приготовление стандартных растворов.

Взвешивают 50 мг Прохлораза в мерной колбе объемом 50 мл. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом (стандартный раствор № 1, концентрация Прохлораза 1 мг/мл). Затем 1 мл стандартного раствора № 1 отбирают пипеткой в

мерную колбу объемом 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании (стандартный раствор № 2, концентрация Прохлораза- 10 мкг/мл). Стандартные растворы № 1 и 2 можно хранить в холодильнике в течение 3-х и 1-го месяцев соответственно.

Ежедневно перед анализом методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 1; 0,5; 0,2; 0,1 мкг/мл вещества, и используют эти растворы для построения калибровочного графика и внесения в контрольный образец при отработке методики.

7.4. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии

7.4.1. Приготовление подвижной фазы.

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанный ацетонитрил и очищенную по п. 7.2. дистиллированную воду.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 750 мл ацетонитрила и 250 мл воды. Смесь тщательно перемешивают, затем пропускают через нее гелий со скоростью 20 мл/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенного гелия на 1 минуту. Полученный раствор используют в качестве подвижной фазы.

7.5. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика вводят в хроматограф последовательно 3 раза по 20 мкл каждого из полученных четырех растворов, измеряют площадь пиков, рассчитывают среднее значение площади пика для каждой концентрации и строят график зависимости площади пика от концентрации Прохлораза (мкг/мл).

8. 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. Для длительного хранения пробы почвы подсушиваются 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, зерно и солому измельчают на лабораторной мельнице.

9. Выполнение определения

9.1. Вода

Пробу воды объемом 100 мл помещают в делительную воронку емкостью 250 мл и трижды экстрагируют гексаном порциями по 50 мл, встряхивая каждый раз воронку в течение 1-2 мин. После разделения фаз в воронке верхний гексановый слой сливают в концентратор, пропуская его через безводный сульфат натрия. Объединенный экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре **не выше 30°С.**

Сухой остаток растворяют в 5-25 мл ацетонитрила и 20 мкл раствора вводят в хроматограф.

9.2. Почва

Образец почвы массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, добавляют 5 мл дистиллированной воды, встряхивают колбу до полного смешивания и дают выстояться в течение 10 минут. Затем в колбу прибавляют 30 мл ацетона и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 10 мин. Содержимое колбы переносят в центрифужный стакан и центрифугируют при 2500 об/мин 5 мин. Супернатант фильтруют в концентратор объемом 250 мл через фильтр "красная лента". Почву из центрифужного стакана возвращают обратно в коническую колбу и Прохлораз экстрагируют еще раз, используя 30 мл ацетона и встряхивая колбу в течение 10 мин, с обязательным последующим центрифугированием. Экстракты объединяют в концентраторе объемом 250 мл. Объединенный экстракт выпаривают досуха при температуре **не выше 30° С.**

Сухой остаток растворяют в 3 мл ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют 50 мл дистиллированной воды и 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия и переносят содержимое концентратора в делительную воронку объемом 250 мл. После этого в воронку приливают 20 мл гексана, интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. Дают жидкости отстояться и после разделения слоев верхнюю гексановую фракцию собирают в концентратор, пропуская через 10 г безводного сульфата натрия.. Нижнюю фракцию возвращают в делительную воронку и повторяют операцию еще 2 раза, используя по 20 мл гексана каждый раз. По окончанию экстракции осушитель промывают 10 мл гексана. Гексановые экстракты объединяют в концентраторе, а водную фракцию отбрасывают. Объединенный гексановый экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре **не выше 30°.**

Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона, тщательно обмывая стенки колбы, добавляют туда же 50 мл дистиллированной воды и 25 мл 0.1н раствора соляной кислоты. Затем содержимое концентратора переносят в делительную воронку объемом 250 мл, добавляют туда же 20 мл гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев верхнюю гексановую фракцию отбрасывают , нижний водный слой

возвращают в делительную воронку и еще раз промывают 20 мл гексана (после разделения слоев верхнюю гексановую фракцию отбрасывают). К водному остатку добавляют 10-15 мл 5% водного раствора бикарбоната натрия (до pH 7) и трижды реэкстрагируют Прохлораз гексаном, используя каждый раз по 20 мл и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев верхнюю гексановую фракцию собирают в концентратор, пропуская через 10 г безводного сульфата натрия, осушитель промывают 10 мл гексана и также собирают в концентратор. Водную фракцию отбрасывают. Объединенный гексановый экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и вводят в хроматограф 20 мкл раствора.

9.3. Зерно

Образец размолотого зерна массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 30 мл ацетонитрила и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 15 мин. Экстракт фильтруют в концентратор объемом 250 мл через бумажный фильтр "красная лента". Прохлораз экстрагируют еще 2 раза порциями по 30 мл ацетонитрила в течение 15 мин. Экстракты объединяют в концентраторе. Объединенный экстракт выпаривают досуха при температуре не выше 30° С.

Сухой остаток растворяют в 3 мл ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют туда же 50 мл дистиллированной воды, 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия и 10 мл 5% раствора бикарбоната натрия. Содержимое концентратора переносят в делительную воронку объемом 250 мл. Прохлораз трижды реэкстрагируют гексаном, используя каждый раз по 20 мл и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев верхнюю гексановую фракцию собирают в химический стакан объемом 100 мл. Водную фракцию отбрасывают.

Объединенный гексановый экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 мл и Прохлораз из гексана экстрагируют трижды ацетонитрилом порциями по 20 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев нижнюю ацетонитрильную фракцию собирают в химический стакан объемом 100 мл. Гексан отбрасывают.

Объединенный ацетонитрильный экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 мл, добавляют туда же 20 мл гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев нижнюю ацетонитрильную фракцию собирают в концентратор объемом 250 мл, пропуская через химическую воронку с 10 г безводного сульфата натрия (осушитель промывают 10 мл ацетонитрила и объединяют с экстрактом). Гексан отбрасывают. Ацетонитрил выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30°.

Сухой остаток растворяют в 3 мл ацетона, добавляют 20 мл дистиллированной воды, 10 мл 0.1н раствора соляной кислоты и помещают в делительную воронку объемом 250 мл. Туда же прибавляют 20 мл гексана и интенсивно встряхивают делительную воронку в течение 2 мин. После разделения фаз верхний гексановый слой отбрасывают, нижний водный слой возвращают в делительную воронку и добавляют туда же 15 мл 5% раствора бикарбоната натрия (до pH 7).

Прохлораз экстрагируют гексаном, используя каждый раз по 20 мл и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев верхнюю гексановую фракцию собирают в концентратор, пропуская через 10 г безводного сульфата натрия, осушитель промывают 10 мл гексана и также собирают в концентратор. Водную фракцию отбрасывают. Объединенный гексановый экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре **не выше 30°**. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и вводят в хроматограф 20 мкл раствора.

9.4. Солома

Образец измельченной соломы массой 5 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл ацетона и встряхивают на механическом встряхивателе в течение 5 мин. Экстракт фильтруют в коническую колбу объемом 250 мл через бумажный фильтр "красная лента". Прохлораз экстрагируют еще 3 раза порциями по 50, 20 и 20 мл ацетона в течение 5 мин.. Экстракты объединяют в конической колбе объемом 250 мл и помещают на ночь в холодильник. На следующий день объединенный экстракт фильтруют через бумажный фильтр "красная лента" в концентратор объемом 250 мл и выпаривают досуха при температуре **не выше 30° С**.

Сухой остаток растворяют в 3 мл ацетона, тщательно обмывая стенки концентратора, добавляют туда же 50 мл дистиллированной воды и 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия. Содержимое концентратора переносят в делительную воронку объемом 250 мл. Прохлораз трижды экстрагируют гексаном, используя каждый раз по 20 мл и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев верхнюю гексановую фракцию собирают в концентратор объемом 250 мл. Водную фракцию отбрасывают. Объединенный гексановый экстракт выпаривают досуха при температуре **не выше 30° С.**

Сухой остаток растворяют в 50 мл ацетонитрила и переносят в делительную воронку объемом 250 мл. К экстракту в делительной воронке добавляют 20 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения слоев нижнюю ацетонитрильную фракцию собирают в химический стакан объемом 100 мл. Гексан отбрасывают. Ацетонитрильную фракцию возвращают в делительную воронку и еще раз промывают 20 мл гексана. Гексан

отбрасывают. Ацетонитрил собирают в концентратор объемом 100 и выпаривают досуха при температуре **не выше 30° С.**

Сухой остаток растворяют в 5 мл ацетона, добавляют 50 мл дистиллированной воды и 25 мл 0.1н соляной кислоты и переносят в делительную воронку объемом 250 мл. К раствору в делительной воронке прибавляют 20 мл гексана и интенсивно встряхивают в течение 2 мин. После разделения слоев гексан отбрасывают. Процедуру повторяют еще 2 раза. К водному слою в делительной воронке прибавляют 15 мл 5% раствора бикарбоната натрия (до pH 7). Прохлораз экстрагируют гексаном, используя каждый раз по 20 мл и интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев верхнюю гексановую фракцию собирают в концентратор, пропуская через 10 г безводного сульфата натрия, осушитель промывают 10 мл гексана и также собирают в концентратор. Водную фракцию отбрасывают. Объединенный гексановый экстракт выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре **не выше 30°**. Сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и вводят в хроматограф 20 мкл раствора.

9.5. Условия хроматографирования

Хроматограф "Waters" или другой с аналогичными характеристиками с ультрафиолетовым детектором с измеряемой длиной волны.

Колонка стальная Zorbax SB-C18, 4,6 мм х 25 см.

Температура колонки 25°С.

Подвижная фаза: ацетонитрил--вода 75:25 по объему.

Скорость потока элюента: 1 мл/мин.

Рабочая длина волны 240 нм.

Чувствительность 0,0025 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 мкл.

Время удерживания Прохлораза - 6,6 – 6,9 мин.

Линейный диапазон детектирования 2-20 нг.

Альтернативная колонка: Lichrosorb RP 18, зернение 5 мкм.

Подвижная фаза: ацетонитрил-10 мМ фосфатный буфер, pH 3 (55:45, по объему).

Рабочая длина волны: 228 нм.

Время удержания Прохлораза - 14,6-15,4 мин.

10. Обработка результатов анализа

Содержание Прохлораза рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{Sпр \cdot A \cdot V}{100 \cdot Sст \cdot m} \cdot P$$

где X - содержание Прохлораза в пробе, мг/кг или мг/л;

Sст - высота (площадь) пика стандарта, мм;

Sпр - 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 Прохлораза в аналитическом стандарте, %.

11. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ ИСО 5725–1-6. 2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

12. Разработчики

Калинин В.А., профессор, канд. с-х. наук, Калинина Т.С., ст. н. сотр., канд. с-х. наук, Довгилевич Е.В., ст. н. сотр., канд. биол. наук, Довгилевич А.В., ст. н. сотр., канд. хим. наук,

Российский государственный аграрный университет - МСХА имени 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