Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств химических веществ в объектах окружающей среды, атмосферном воздухе, воздухе рабочей зоны и сельскохозяйственной продукции

Сборник методических указаний МУК 4.1.1960, 4.1.1961, 4.1.1963—4.1.1980—05

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств химических веществ в объектах окружающей среды, атмосферном воздухе, воздухе рабочей зоны и сельскохозяйственной продукции: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.—196 с.

1. Разработаны Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева, Учебно-научным консультационным центром «Токсикология пестицидов и агрохимикатов» (Калинин В. А., Калинина Т. С., Рыбакова О. И., Калинин А. В.).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно – гигиеническому нормированию Минздрава России (протокол № 1 от 31 марта 2005 г.).

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 21 апреля 2005 г.

4. Введены в действие с 1 июля 2005 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

© Роспотребнадзор, 2007
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007

Содержание

Измерение концентраций Пропетамфоса методом газожидкостной хроматографии в воздухе рабочей зоны: МУК 4.1.1960—05 5
Определение остаточных количеств дифеноконазола в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1961—05 11
Определение остаточных количеств лямбда-Цигалотрина в корнеплодах моркови и луке-репке методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1963—05 20
Определение остаточных количеств 3-гидроксикарбофурана (основного метаболита карбофурана) в корнеплодах и зелёной массе сахарной свёклы, в семенах и масле рапса (горчицы) методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1964—05 29
Определение остаточных количеств флутриафола в плодах яблони, ягодах и соке винограда методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1965—05 39
Определение остаточных количеств протиоконазола по его основному метаболиту протиоконазол-дестио в зерне и соломе зерновых колосовых культур методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1966—05 47
Определение остаточных количеств крезоксим-метила в огурцах, томатах, ягодах и соке винограда методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1967—05 57
Определение остаточных количеств имазетапира в воде, почве, семенах и масле сои методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1968—05 67
Определение остаточных количеств ацетохлора в ботве, корнеплодах сахарной свеклы и корнеплодах моркови методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1969—05 77
Определение остаточных количеств фипронила и его метаболитов (МВ 46513, МВ 45950, МВ 46136) в зеленой массе пастбищных трав методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1970—05 84
Определение остаточных количеств хлорпрофама в картофельных чипсах методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1971—05 93
Определение остаточных количеств метрибузина в воде, почве, томатах и картофеле методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1972—05 103
Определение остаточных количеств эпоксиконазола в ботве и корнеплодах сахарной свеклы методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1973—05 113
Определение остаточных количеств пираклостробина в зерне, соломе, зеленой массе и зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1974—05 122

Определение остаточных количеств метсульфурон-метила в семенах, масле и соломке льна методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1975—05 135
Определение остаточных количеств клопиралида в семенах, масле и соломке льна, в семенах и масле рапса методом газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.1976—05 146
Определение остаточных количеств имидаклоприда в яблоках, капусте, ботве и корнеплодах свеклы, семенах кукурузы, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1977—05 158
Определение остаточных количеств глифосата в зерне и масле сои, семенах и масле подсолнечника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1978—05 169
Измерение концентраций протиоконазола в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1979—05 181
Определение остаточных количеств протиоконазола и его основного метаболита протиоконазола-дестио в воде, протиоконазола и протиоконазола-дестио по метаболиту протиоконазолу-дестио в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: МУК 4.1.1980—05 190

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
21 апреля 2005 г.
Дата введения: 1 июля 2005 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пираклостробина в зерне, соломе, зеленой массе и зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

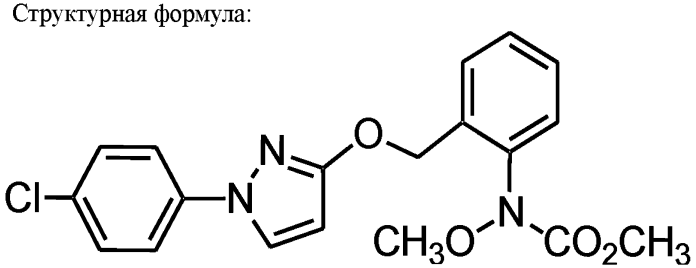
Методические указания
МУК 4.1.1974—05

1. Вводная часть

Название действующего вещества по ИСО: пираклостробин.

Название действующего вещества по ИЮПАК: метил *N*-{2-[1-(4-хлорфенил)-1*H*-пиразол-3-илоксиметил]фенил}(*N*-метокси)карбамат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{19}H_{18}ClN_3O_4$.

Молекулярная масса: 387,8.

Химически чистый пираклостробин представляет собой белый или светло-бежевый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления: 63,7—65,2 °С .

Давление паров 2,6 х 10^{-5} мПа (при 20 °С).

Коэффициент распределения октанол-вода K_{ow} logP 3,99 (22 °С).

Растворимость в воде 1,9 мг/л (при 20 °С).

Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С): ацетон – более 200, ацетонитрил – более 980, изопропанол – 40, метанол – 140.

Стабилен в течение более 30 дней при pH 5,7 и температуре 25 °С; подвержен фотолизу в воде – $ДТ_{50}$ составляет менее 2 часов.

Краткая токсикологическая характеристика: пираклостробин относится к малоопасным по острой оральной ($СД_{50}$ для крыс – более 5 00 мг/кг), дермальной токсичности ($СД_{50}$ для крыс – более 2 00 мг/кг) и умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности ($СК_{50}$ 4 час. для крыс 4 00—7 00 мг/м^3). Он не вызывает раздражения слизистых оболочек глаз и кожи и не обладает мутагенным, тератогенным, эмбриотоксическим, канцерогенным действием.

Гигиенические нормативы: МДУ в зерне хлебных злаков 0,1 мг/кг.

Область применения препарата: Пираклостробин – фунгицид из группы стробилуринов контактного и глубинного действия с длительным защитным эффектом. Высокоэффективен против возбудителей ложной и мучнистой настоящей росы.

Рекомендуется для борьбы с фитопатогенными грибами на зерновых, овощных и плодовых культурах.

2. Методика определения остаточных количеств пираклостробина в зерне, соломе и зеленой массе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении пираклостробина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием ультрафиолетового детектора после его экстракции из образцов органическим растворителем, очистке перераспределением между двумя несмешивающимися фазами и на концентрирующих патронах на основе силикагеля (Диапак-Амин и Диапак С 16). Идентификация веществ проводится по времени удерживания, а количественное определение – методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл. 1.

Таблица

Метрологическая характеристика метода определения

	Метрологические параметры, p=0,95, n=20				
Анализируемый объект	предел обнаружения, (мг/л)	диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/л)	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S, %	доверительный интервал среднего результата, %, ±
Зерно	0,02	0,02—0,20	83,2	2,378	1,11
Зеленая масса	0,02	0,02—0,20	78	2,787	1,31
Солома	0,02	0,02—0,20	79,4	2,898	1,36

2.1.3. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при выращивании зерновых колосовых культур.

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Пираклостробин, аналитический стандарт с содержанием д.в. 99,9 %, фирма БАСФ
Ацетон, осч, 9—5 — ТУ 2633-00-4-11291058—94
Ацетонитрил — ТУ 6-09-3534—87
Вода бидистиллированная, деионизированная — ГОСТ 7602—72
н-Гексан, ч. — ТУ 6-09-3375
Калий марганцово-кислый, чда — ГОСТ 20490—75
Кальций хлористый, хч — ГОСТ 4161—76
Кислот серная концентрированная, ч — ГОСТ 4204—77
Кислота соляная, концентрированная — ГОСТ 857—88
Кислота уксусная, ледяная — ГОСТ 61—75
Метилен хлористый, хч — ТУ 6-09-2662—77
Натрия гидрокарбонат, хч — ГОСТ 2156—76
Натрий сернокислый, безводный, хч — ГОСТ 4166—76
Натрий хлористый, хч — ГОСТ 4233—77
Патроны концентрирующие
Диапак-Амин (0,6 г) — ТУ 4215-002-05451931—94
Патроны концентрирующие Диапак-С 16 (0,6 г) — ТУ 4215-002-05451931—94

Фосфора пентоксид, ч	МРТУ 6-09-5759—69
Этиловый эфир уксусной кислоты, чда	ГОСТ 223000—76
Фаза подвижная для ВЭЖХ: ацетонитрил – 600 мл, вода – 300 мл, ледяная уксусная кислота – 1мл	
Фильтры бумажные «красная лента»	ТУ-6-09-1678—86
Фильтры для очистки растворителей, диаметром 20 мм с отверстиями пор 20 мкм, фирма Уотерс	

Перед началом эксперимента проверяют чистоту ацетонитрила, ацетона, гексана и хлористого метилена. Для этого досуха выпаривают на ротационном вакуумном испарителе 200 мл растворителя, добавляют в концентратор 1 мл ацетонитрила, тщательно обмывают стенки концентратора и хроматографируют при 270 нм. При недостаточной чистоте растворителей проводят их очистку.

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

Ацетон перегоняют над небольшим количеством перманганата калия.

(А. Гордон, Р. Форд Спутник химика, Москва, 1976 г., С. 438—439).

Ацетонитрил перегоняют.

н-Гексан встряхивают с концентрированной серной кислотой, промывают бледно-розовым раствором перманганата калия до тех пор, пока раствор не перестанет обесцвечиваться водой, затем промывают водой, сушат над безводным хлористым кальцием и перегоняют (А. Гордон, Р. Форд. Спутник химика. М., 1976. 441 с.).

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

2.2.2. Приборы и оборудование

Алонж прямой с отводом для вакуума для работы с концентрирующими патронами Диапак – Амин, Диапак – С, Диапак – С 16	
Ванна ультразвуковая	
Весы аналитические ВЛА-200, или аналогичные	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

Воронки делительные на 250 и 500 мл	ГОСТ 25336—82Е
Воронки конические, стеклянные диаметром 50—60 мм	ГОСТ 25336—82Е
Встряхиватель механический, или аналогичный	ТУ 64-673М
Испаритель ротационный вакуумный ИР-1М или аналогичный	ТУ 25-11-917—74
Колбы конические, плоскодонные на 500 и 1 000 мл	ГОСТ 9737—70
Колбы мерные на 25, 50 и 100 мл	ГОСТ 1770—74
Колонка хроматографическая стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, Symmetry Shield RP18, зернение 5 мкм, фирма Уотерс	
Концентраторы грушевидные и круглодонные, объемом 50, 100 и 250 мл, КТУ-100-14/19	ГОСТ 10394—75
Микрошприц для жидкостного хроматографа на 50—100 мкл	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696—75
Пипетки мерные на 1,0; 2,0; и 5,0 мл	ГОСТ 20292—74
Предколонка хроматографическая стальная, Symmetry C 18 длиной 20 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, зернение 5 мкм, фирма Уотерс.	
Стаканы стеклянные на 100—500 мл	ГОСТ 25366—80Е

Хроматограф жидкостный Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,005 единиц адсорбции на шкалу или другой аналогичного типа.

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонки для жидкостной хроматографии

Хроматографическую колонку Symmetry Shield RP18 устанавливают в термостате хроматографа и стабилизируют при температуре 25 °С и скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин 3—4 ч.

2.3.2. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают 100 мг пираклостробина в мерной колбе объемом 100 мл. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом (стандартный раствор с концентрацией пираклостробина 1,0 мг/мл).

Затем 1,0 мл стандартного раствора с концентрацией 1,0 мг/мл отбирают пипеткой в мерную колбу объемом 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом при перемешивании (стандартный раствор с концентрацией пираклостробина 10,0 мкг/мл). Стандартные растворы можно хранить в холодильнике в течение трех месяцев.

Методом последовательного разведения ацетонитрилом готовят растворы, содержащие по 5,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/мл и используют эти растворы для хроматографического исследования и внесения в контрольные образцы.

2.3.3. Приготовление растворов для жидкостной хроматографии

Для приготовления подвижной фазы используют свежеперегнанные ацетонитрил и очищенную воду.

Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 600 мл ацетонитрила, 300 мл очищенной воды и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Смесь тщательно перемешивают, пропускают через нее газообразный гелий со скоростью 20 мл/мин в течение 5 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну для удаления растворенных газов на 1 минуту. Полученный раствор используют в качестве подвижной фазы.

2.3.4. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика вводят в хроматограф последовательно 3 раза по 20 мкл каждого из стандартных растворов, содержащих пираклостробин с концентрациями 1,0; 0,5; 0,2 и 0,1 мкг/мл, измеряют площадь пиков, рассчитывают среднее значение площади пика для каждой концентрации и строят график зависимости площади пика от концентрации пираклостробина.

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

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 мл/мин.

Патрон Диапак-Амин устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 мл (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают последовательно 10 мл смеси гексан-ацетон в соотношении 1 : 1 и 10 мл гексана. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!

2.3.5.1. Проверка хроматографического поведения пираклостробина на концентрирующем патроне Диапак-Амин.

Из стандартного раствора пираклостробина в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/мл отбирают 1 мл, помещают в круглодонную колбу объемом 100 мл и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона, помещают на 10 с в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 мл гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют.

Концентратор тщательно обмывают последовательно двумя порциями по 10 мл смеси гексан-ацетон в соотношении 9 : 1 и также вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие пираклостробин, и объединяют их.

2.3.6. Подготовка концентрирующего патрона Диапак-С16 (0,6 г) для очистки экстракта

Все процедуры происходят с использованием вакуума, скорость потока растворов через патрон не должна превышать 5 мл/мин. При работе на патронах Диапак С16 используют очищенную воду.

Патрон Диапак-С 16 устанавливают на алонж с отводом для вакуума, сверху в патрон вставляют шприц с разъемом типа Люер объемом не менее 10 мл (используют как емкость для элюентов).

Кондиционирование: концентрирующий патрон промывают последовательно 10 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 1 и 20 мл воды. Элюат отбрасывают.

Нельзя допускать высыхания поверхности патрона!

2.3.6.1. Проверка хроматографического поведения пираклостробина на концентрирующем патроне Диапак-С16.

Из стандартного раствора пираклостробина в ацетонитриле, содержащего 1 мкг/мл отбирают 1 мл, помещают в круглодонную колбу объемом 100 мл и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетонитрила, помещают на 10 с в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 мл воды, смесь тщательно перемеши-

вают и полученный раствор вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют.

Концентратор обмывают 10 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 4 и смесь вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют.

Концентратор обмывают 10 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 2 и вносят на патрон. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют.

Концентратор обмывают тремя порциями по 10 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 1(при анализе образцов зерна – тем же объемом смеси ацетонитрил-вода-ледяная уксусная кислота в соотношении 600 : 300 : 1) и также вносят на патрон. Элюат после прохождения каждой порции собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и хроматографируют. Определяют фракции, содержащие пираклостробин, и объединяют их.

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. Замороженные образцы зеленой массы хранят в морозильной камере при температуре не выше 18 °С.

2.5. Описание определения

2.5.1. Зерно

2.5.1.1. Экстракция и предварительная очистка.

Образец размолотого на лабораторной мельнице зерна массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 10 мл дистиллированной воды и выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем туда же прибавляют 30 мл ацетонитрила и экстрагируют в течение 5 мин на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракт переносят через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250 мл с 5 г пова-

ренной соли. Экстракцию повторяют еще 3 раза, используя по 30 мл ацетонитрила и экстрагируя по 5 мин на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе.

После фильтрования экстракты объединяют в конической колбе с 5 г поваренной соли, перемешивают и оставляют на 10 мин при комнатной температуре. Затем экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 мл и выделившийся нижний водный слой отбрасывают. Верхний ацетонитрильный слой пропускают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 мл и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

К сухому остатку в концентраторе добавляют 5 мл ацетона и тщательно обмывают его стенки, затем туда же добавляют 100 мл дистиллированной воды, 5 г поваренной соли и перемешивают до полного растворения соли. Полученную смесь переносят в делительную воронку объемом 250 мл, концентратор обмывают 30 мл гексана, который помещают в ту же делительную воронку и интенсивно встряхивают ее в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой переносят в коническую колбу объемом 250 мл, а верхний гексановый слой собирают в другую коническую колбу объемом 250 мл, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водный слой возвращают в делительную воронку и экстрагируют пираклостробин еще двумя порция гексана объемом по 30 мл. Водный слой отбрасывают, а гексановый экстракт, пропущенный через слой безводного сульфата натрия, переносят в сухую делительную воронку объемом 250 мл, осушитель обмывают 10 мл гексана и объединяют смыв с основным экстрактом.

Пираклостробин экстрагируют из гексана тремя порциями ацетонитрила объемом по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают через безводный сульфат натрия в концентратор объемом 250 мл и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

2.5.1.2. Очистка на концентрирующих патронах.

Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона, помещают на 10 с в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 мл гексана, смесь тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон Диапак-Амин. Концентратор тщательно обмывают 10 мл смеси гексан-ацетон в соотношении 9 : 1 и также вносят на патрон. Элюаты объединяют и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Сухой остаток растворяют в 1 мл ацетонитрила, помещают на 10 секунд в ультразвуковую ванну и тщательно обмывают стенки концентратора. Затем в концентратор добавляют 9 мл воды, тщательно перемешивают и полученный раствор вносят на патрон Диапак-С16. Элюат отбрасывают.

Концентратор обмывают 10 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 4 и вносят на патрон. Элюат отбрасывают.

Концентратор обмывают 10 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 2 и вносят на патрон. Элюат отбрасывают.

Пираклостробин элюируют 20 мл смеси ацетонитрил-вода-ледяная уксусная кислота в соотношении 600 : 300 : 1. Элюат собирают в концентратор, выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 2 мл ацетонитрила и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.2. Зеленая масса

Образец измельченной зеленой массы массой 10 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 50 мл ацетонитрила и экстрагируют в течение 5 мин на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракт переносят через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250 мл с 5 г поваренной соли. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя по 50 мл ацетонитрила и экстрагируя по 5 мин на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. После фильтрования экстракты объединяют в конической колбе с 5 г поваренной соли, перемешивают и оставляют на 10 мин при комнатной температуре. Затем экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 мл и выделившийся нижний водный слой отбрасывают. Верхний ацетонитрильный слой пропускают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 мл и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

К сухому остатку в концентраторе добавляют 5 мл ацетона и тщательно обмывают его стенки, затем туда же добавляют 100 мл дистиллированной воды, 5 г поваренной соли и перемешивают до полного растворения соли. Полученную смесь переносят в делительную воронку объемом 250 мл, концентратор обмывают 30 мл гексана, который помещают в ту же делительную воронку и интенсивно встряхивают ее в течение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой помещают в коническую колбу объемом 250 мл, а верхний гексановый слой собирают в коническую колбу объемом 250 мл, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водный слой

возвращают в делительную воронку и экстрагируют пираклостробин еще двумя порциями гексана объемом по 30 мл. Водный слой отбрасывают, а гексановый экстракт, пропущенный через слой безводного сульфата натрия, переносят в сухую делительную воронку объемом 250 мл, осушитель обмывают 10 мл гексана и объединяют смыв с основным экстрактом.

Пираклостробин экстрагируют из гексана тремя порциями ацетонитрила объемом по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают через безводный сульфат натрия в концентратор объемом 250 мл и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта на концентрирующих патронах, как указано в разделе 2.5.1.2, элюируя пираклостробин с патрона Диапак С16 смесью ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 1. Элюат выпаривают досуха и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.5.3. Солома

Образец измельченной на лабораторной мельнице соломы массой 5 г помещают в коническую колбу объемом 250 мл, прибавляют 75 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 9 : 1 и экстрагируют в течение 5 мин на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. Экстракт переносят через бумажный фильтр «красная лента» в коническую колбу объемом 250 мл с 5 г поваренной соли. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя по 50 мл смеси ацетонитрил-вода в соотношении 9 : 1 и экстрагируя по 5 мин на ультразвуковой ванне и дополнительно 5 мин на механическом встряхивателе. После фильтрования экстракты объединяют в конической колбе с 5 г поваренной соли, перемешивают и оставляют на 10 мин при комнатной температуре. Затем экстракт переносят в делительную воронку объемом 250 мл и выделившийся нижний водный слой отбрасывают. Верхний ацетонитрильный слой пропускают через слой безводного сульфата натрия в концентратор объемом 250 мл и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

К сухому остатку в концентраторе добавляют 5 мл ацетона и тщательно обмывают его стенки, затем туда же добавляют 100 мл дистиллированной воды, 5 г поваренной соли и перемешивают до полного растворения соли. Полученную смесь переносят в делительную воронку объемом 250 мл, концентратор обмывают 30 мл гексана, который помещают в ту же делительную воронку и интенсивно встряхивают ее в те-

чение 2 мин. После полного разделения фаз в делительной воронке нижний водный слой помещают в коническую колбу объемом 250 мл, а верхний гексановый слой собирают в коническую колбу объемом 250 мл, пропуская через слой безводного сульфата натрия. Водный слой возвращают в делительную воронку и экстрагируют пираклостробин еще двумя порциями гексана объемом по 30 мл. Водный слой отбрасывают, а гексановый экстракт, пропущенный через слой безводного сульфата натрия, переносят в сухую делительную воронку объемом 250 мл, осушитель обмывают 10 мл гексана и объединяют смыв с основным экстрактом.

Пираклостробин экстрагируют из гексана тремя порциями ацетонитрила объемом по 30 мл, интенсивно встряхивая делительную воронку в течение 2 мин. После разделения слоев нижний ацетонитрильный слой собирают через безводный сульфат натрия в концентратор объемом 250 мл и выпаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 30 °С.

Далее проводят очистку экстракта на концентрирующих патронах, как указано в разделе 2.5.1.2, элюируя пираклостробин с патрона Диапак С16 смесью ацетонитрил-вода в соотношении 1 : 1. Элюат выпаривают досуха и аликвоту 20 мкл вводят в хроматограф.

2.6. Условия хроматографирования и обработка результатов

2.6.1. Условия хроматографирования

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

Колонка стальная Symmetry Shield RP18, 4,6 мм х 25 см, зернением 5 мкм.

Предколонка стальная Symmetry RP18, 3,9 мм х 2 см, зернением 5 мкм.

Температура колонки: 25 °С.

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-ледяная уксусная кислота в соотношении 600 : 300 : 1.

Длина волны 270 нм.

Время выхода Пираклостробина 9,8—10,4 мин.

Чувствительность 0,005 ед. оптической плотности на шкалу.

Объем вводимой пробы 20 мкл.

Линейный диапазон детектирования сохраняется в пределах 2—20 нг.

2.6.2. Обработка результатов анализа

Содержание пираклостробина рассчитывают по формуле:

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

X – содержание Пираклостробина 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 пираклостробина 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., Довгилевич Е. В., Довгилевич А. В., Устименко Н. В.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева. 127550, Москва, ул. Тимирязевская 53, стр. 2, УНКЦ «Агроэкология пестицидов и агрохимикатов». Телефон: 976-37-68; факс: 976-43-26.

gost.e-ecolog.ru