

**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**

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 дифенокназола 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

## МУК 4.1.1960—05

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 пиракlostробина  
в зерне, соломе, зеленой массе и зерновых  
колосовых культур методом высокоэффективной  
жидкостной хроматографии**

**Методические указания  
МУК 4.1.1974—05**

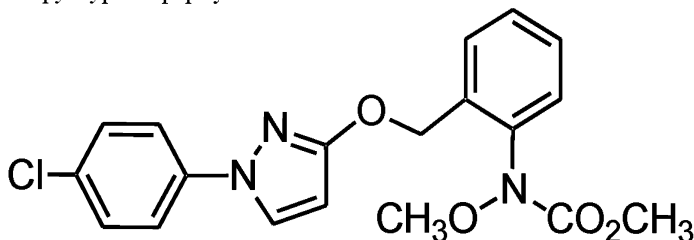
---

**1. Вводная часть**

Название действующего вещества по ИСО: пиракlostробин.

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 пиракlostробин представляет собой белый или  
светло-бежевый кристаллический порошок без запаха.

Температура плавления: 63,7—65,2 °С.

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

Коэффициент распределения октанол-вода  $K_{ow} \log P$  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 фотолузу в воде – ДТ<sub>50</sub> составляет менее 2 часов.

*Краткая токсикологическая характеристика:* пиракlostробин относится к малоопасным по острой оральной (СД<sub>50</sub> для крыс – более 5 00 мг/кг), дермальной токсичности (СД<sub>50</sub> для крыс – более 2 00 мг/кг) и умеренно опасным веществам по ингаляционной токсичности (СК<sub>50</sub> 4 час. для крыс 4 00—7 00 мг/м<sup>3</sup>). 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:* Пиракlostробин – 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 пиракlostробина 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 пиракlostробина 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, $S_x$ , %	доверительный интервал среднего результата, %, $\pm$
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

Ацетонитрил

Вода бидистиллированная, деионизированная

н-Гексан, ч.

Калий марганцово-кислый, чда

Кальций хлористый, хч

Кислот серная концентрированная, ч

Кислота соляная, концентрированная

Кислота уксусная, ледяная

Метилен хлористый, хч

Натрия гидрокарбонат, хч

Натрий сернокислый, безводный, хч

Натрий хлористый, хч

Патроны концентрирующие

Диапак-Амин (0,6 г)

Патроны концентрирующие Диапак-С 16 (0,6 г)

ТУ 2633-00-4-11291058—94

ТУ 6-09-3534—87

ГОСТ 7602—72

ТУ 6-09-3375

ГОСТ 20490—75

ГОСТ 4161—76

ГОСТ 4204—77

ГОСТ 857—88

ГОСТ 61—75

ТУ 6-09-2662—77

ГОСТ 2156—76

ГОСТ 4166—76

ГОСТ 4233—77

ТУ 4215-002-05451931—94

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, ГОСТ 34104—80 Е

или аналогичные

Весы лабораторные общего назначения, с

наибольшим пределом взвешивания до 500 г

и пределом допустимой погрешности  $\pm 0,038$  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 С 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 пиракlostробина в мерной колбе объемом 100 мл. Навеску растворяют в ацетонитриле и доводят объем до метки ацетонитрилом (стандартный раствор с концентрацией пиракlostробина 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 пиракlostробина 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 пиракlostробин 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 пиракlostробина.

### *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 пиракlostроби-на на концентрирующем патроне Диапак-Амин.

Из стандартного раствора пиракlostроби-на 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 пиракlostроби-н, 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 пиракlostроби-на на концентрирующем патроне Диапак-С16.

Из стандартного раствора пиракlostроби-на 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 перемешивают.

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 пиракlostробин 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.

Пиракlostробин 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 фильтрации 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 пиракlostробин 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.

Пиракlostробин 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 пиракlostробин 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 x 25 см, зернением 5 мкм.

Предколонка стальная Symmetry RP18, 3,9 мм x 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 Пиракlostробина 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 пиракlostробина рассчитывают по формуле:

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

$X$  – содержание Пиракlostробина в пробе, мг/кг или мг/л;

$S_{ст}$  – высота (площадь) пика стандарта, мм;

$S_{np}$  – 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 пиракlostробина 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.