Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств Феноксапроп-П и Феноксапроп-П-этила в воде и Феноксапроп-П в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника, льна, сои и рапса, ботве и корнеплодах сахарной и столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

МУК 4.1.1461—03

Издание официальное

Минздрав России
Москва • 2004

gost.e-ecolog.ru

Определение остаточных количеств Феноксапроп-П и Феноксапроп-П-этила в воде и Феноксапроп-П в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника, льна, сои и рапса, ботве и корнеплодах сахарной и столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

МУК 4.1.1461—03

ББК 51.21+51.23
О60

О60 **Определение** остаточных количеств Феноксапроп-П и Феноксапроп-П-этила в воде и Феноксапроп-П в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника, льна, сои и рапса, ботве и корнеплодах сахарной и столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.—16 с.

ISBN 5—7508—0530—1

1. Подготовлены: Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (чл.-корр. РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева (проф. В. А. Калинин, к. хим. н. А. В. Довгилевич); при участии Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России (А. П. Веселов).

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по госсанэпиднормированию при Минздраве России.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.21+51.23

Редакторы Акопова Н. Е., Барабанова Т. Л., Глазкова М. Ф.
Технический редактор Ломанова Е. В.

Подписано в печать 07.04.04

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,0
Тираж 500 экз. Заказ 34

Министерство здравоохранения Российской Федерации
101431, Москва, Рахмановский пер., д. 3

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован Издательским отделом Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России
125167, Москва, проезд Аэропорта, 11.
Отделение реализации, тел. 198-61-01

© Минздрав России, 2004
© Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 июня 2003 г.
Дата введения: 30 июня 2003 г.

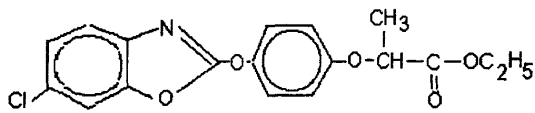
4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств Феноксапроп-П и Феноксапроп-П-этила в воде и Феноксапроп-П в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника, льна, сои и рапса, ботве и корнеплодах сахарной и столовой свеклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методические указания МУК 4.1.1461—03

1. Вводная часть

Фирма производитель: Байер КропСайенс (Германия).
Торговое название: Пума-супер, Фуроре-супер.
Действующее вещество: феноксапроп-П-этил.
Этил (R)-2-[4-[(6-хлор-2-бензоксазолил)окси]феноксиј]пропаноат (С.А.).
Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{18}H_{16}ClNO_5$ М. м.: 361,8
Белое твердое вещество без запаха.
Температура плавления: 89—91 °С.
Давление паров при 20 °С: $5,3 \times 10^{-4}$ мПа.
Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 4,58.
Растворимость (г/л) при 20 °С: ацетон – 200, толуол – 200, этилацетат – более 200, этанол – 24; растворимость в воде – 0,7 мг/л.

Вещество стабильно в течение 90 дней при 50 °С, не разрушается на свету, нестабильно в нейтральной и особенно щелочной средах: DT_{50} = 1 000 дней (pH 5), 100 дней (pH 7), 2,4 дня (pH 9).

Краткая токсикологическая характеристика.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс 3 150—4 000, для мышей – более 5 000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2 000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс – более 1,224 мг/л воздуха. Феноксапроп-П-этил не вызывает раздражения кожи. LC_{50} для рыб – 0,46—0,58 мг/л (96 ч).

Феноксапроп-П-этил нетоксичен для пчел, птиц, дождевых червей.

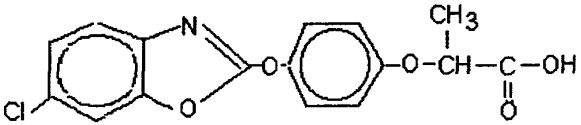
Гигиенические нормативы для феноксапроп-П-этила: ОДК в почве – 0,04 мг/кг; ПДК в воде – 0,0003 мг/дм^3; МДУ в зерне хлебных злаков, моркови, свекле столовой, подсолнечнике (масло) и луке – 0,01, свекле сахарной, сое – 0,05, капусте – 0,02, рапсе, горохе – 0,2 мг/кг.

Основной метаболит феноксапроп-П-этила: феноксапроп-П.

(R)-2-[4-[(6-хлорбензоксазол-2-илокси)]фенокси]пропионовая кислота (ИЮПАК).

(R)-2-[4-[(6-хлор-2-бензоксазолил)окси]фенокси]пропановая кислота (С.А.).

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{12}ClNO_5$ М. м.: 333,7

Светло-бежевый порошок со слабым запахом.

Температура плавления: 155—161 °С.

Давление паров при 20 °С: $1,8 \times 10^{-1}$ мПа.

Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 1,83—0,24 (pH 5—9).

Растворимость (г/л) при 20 °С: толуол – 0,5, метанол – 34, этилацетат – 36, ацетон – 80, вода – 0,27 (pH 5,1) и 61 (pH 7,0).

Другие физико-химические и токсикологические характеристики феноксапроп-П отсутствуют.

Гигиенические нормативы для феноксапроп-П не установлены.

Область применения препарата.

Феноксапроп-П-этил – послевсходовый гербицид системного действия из группы ингибиторов синтеза жирных кислот. Вещество быстро поглощается листьями и хорошо передвигается в акропетальном и бази-

петальном направлении в различные органы растения. Феноксапроп-П-этил эффективно уничтожает однолетние и многолетние злаковые сорняки в посевах свеклы, моркови, сои, льна, арахиса, хлопчатника, капусты, лука и картофеля, а в комбинации с антидотом используется для этих же целей и на посевах пшеницы, ржи и тритикале.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ под торговым названием Пума-супер 100, КЭ (100 г феноксапроп-П-этила и 27 г антидота мефенпир-диэтила в 1 л препарата) и Фуроресупер 7.5, ЭМВ (69 г феноксапроп-П-этила в 1 л препарата) на посевах озимой и яровой пшеницы, свеклы, капусты, подсолнечника, льна, сои и рапса в качестве послевсходового гербицида при норме расхода 0,8—1,2 л/га и однократной обработке за сезон.

Феноксапроп-П-этил весьма лабильное вещество и при попадании в воду, почву или растение очень быстро метаболизируется до более устойчивого соединения – (R)-2-[4-[(6-хлорбензоксазол-2-илокси)]фенокси]пропионовой кислоты /феноксапроп-П/.

2. Методика определения остаточных количеств Феноксапроп-П и Феноксапроп-П-этила в воде и Феноксапроп-П в почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зеленой массе, семенах и масле подсолнечника, льна, сои и рапса, ботве и корнеплодах сахарной и столовой свёклы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на определении феноксапроп-П-этила и его метаболита феноксапроп-П с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором после извлечения препарата из воды гексаном и очистки его на концентрирующем патроне Диапак С16, и экстракции метаболита из подкисленной воды диэтиловым эфиром, из почвы, растительного материала и масла водным ацетонитрилом при ультразвуковой обработке, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в интенсивной технологии выращивания зерновых культур, сахарной и столовой свеклы, подсолнечника, сои, льна и рапса.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Таблица

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$, $n = 20$					
	предел обнаружения, мг/дм^3, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение, S, %	относительное отклонение, %	доверительный интервал среднего, %
Феноксапроп-П-этил						
Вода	0,0003	0,0003—0,003	93,3	6,3	2,8	± 5,8
Феноксапроп-П						
Вода	0,0003	0,0003—0,003	92,4	6,8	3,0	± 6,3
Почва	0,02	0,02—0,2	83,1	6,8	3,0	± 6,3
Зерно	0,01	0,01—0,1	80,1	7,7	3,4	± 7,1
Солома	0,05	0,05—0,5	82,5	8,9	4,0	± 8,4
Свекла столовая (корнеплоды)	0,01	0,01—0,1	81,1	5,1	2,3	± 4,7
Свекла сахарная (корнеплоды)	0,025	0,025—0,25	83,2	5,7	2,5	± 5,7
Свекла сахарная (ботва)	0,025	0,025—0,25	80,1	6 ,4	2,8	± 6,3
Семена подсолнечника	0,01	0,01—0,1	80,7	4,8	2,1	± 4,5
Масло подсолнечника	0,01	0,01—0,1	79,4	4,6	2,1	± 4,3
Семена сои	0,05	0,05—0,5	81,2			
Масло сои	0,05	0,05—0,5	83,0			
Семена рапса	0,10	0,1—1,0	80,7			
Масло рапса	0,10	0,1—1,0	85,3			
Зеленая масса рапса	0,10	0,1—1,0	83,1			
Семена льна	0,10	0,1—1,0	80,7			
Масло льна	0,10	0,1—1,0	81,2			
Соломка	0,10	0,1—1,0	83,3			

2.2. Реактивы, растворы, материалы

Феноксапроп-П-этил с содержанием д.в. 98,9 % (АгрЭво, Германия)	
Феноксапроп-П с содержанием д.в. 99,1 % (АгрЭво, Германия)	
Ацетонитрил, ч	ТУ 6-09-3534—82
Вода бидистиллированная	ГОСТ 7602—72
Гексан, ч	ТУ 6-09-3375—78
Железо (II) серно-кислое, хч	ГОСТ 4148—78
Калия перманганат, хч	ГОСТ 20490—75
Калий углекислый, хч	ГОСТ 4221—76
Кальция хлорид, хч	ГОСТ 4161—77
Кислота ортофосфорная, 87 %, хч	ГОСТ 6552—80
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Кислота хлористоводородная, хч	ГОСТ 3118—77
Натрия гидроксид, хч	ГОСТ 4328—77
Натрия сульфат безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Натрий углекислый, хч	ГОСТ 83—63
Натрия хлорид, хч	ГОСТ 4233—77
Спирт метиловый, хч	ГОСТ 6995—77
Фосфора пентаксид, ч	МРТУ 6-09-5759—69
Этилацетат	ГОСТ 22300—76
Эфир диэтиловый	ГОСТ 6265—74
Элюент № 1 для колоночной хроматографии: смесь этилацетат–метанол (7 : 3, по объему)	
Элюент № 2 для колоночной хроматографии: смесь этилацетат–метанол (6 : 4, по объему)	
Элюент № 1 для Диапака С16: смесь ацетонитрил—вода (10 : 90, по объему)	
Элюент № 2 для Диапака С16: смесь ацетонитрил–вода (20 : 80, по объему)	
Подвижная фаза № 1 для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил–вода (68 : 32, по объему)	
Подвижная фаза № 2 для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил–вода–ортофосфорная кислота (55 : 44,9 : 0,1, по объему)	
Подвижная фаза № 3 для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил–вода–ортофосфорная кислота (54 : 45,9 : 0,1, по объему)	
Концентрирующий патрон Диапак С16 (АО БиоХимМак, РФ)	

Силикагель для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) 1 степени активности или силикагель КСК (60—100 меш)	
Стекловата	
Фильтры бумажные «синяя лента»	ТУ 6-09-1678

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором фирм Altex (США), Knauer (Германия) или аналогичный	
Хроматографическая колонка стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, заполненная Диасорбом 130-С8 Т, Диасфером-110-С18 или Диасорбом 130-С16 Т (АО БиоХимМак, РФ; 119899, Москва, Ленинские горы)	
Шприц для ввода образцов в жидкостный хроматограф	
Шприц для ввода образцов в концентрирующий патрон Диапак	
Весы аналитические типа ВЛР-200	ГОСТ 19401—74
Водоструйный насос	ГОСТ 10696—75
Встряхиватель механический	ТУ 64-1-1081—73
Иономер ЭВ-74 или аналогичный	ГОСТ 22261—76
Мельница электрическая лабораторная или аналогичная	ТУ 46-22-236—79
Ротационный испаритель тип ИР-1М	ТУ 25-11-917—76
Сито с диаметром отверстий 1 мм	
Баня ультразвуковая, модель D-50, Branson Instr. Co., США	
Баня водяная	ТУ 46-22-603—75
Воронка Бюхнера	ГОСТ 0147—73
Воронки делительные, вместимостью 100, 250 мл	ГОСТ 25336—82
Воронки для фильтрования, стеклянные	ГОСТ 8613—75
Колба Бунзена	ГОСТ 5614—75
Колбы круглодонные на шлифе, вместимостью 100, 250 и 500 мл	ГОСТ 9737—70
Колбы конические с притертыми пробками, вместимостью 250 мл	ГОСТ 25336—82
Колбы мерные, вместимостью 25, 50, 100 и 1 000 мл	ГОСТ 1770—74

Колбы грушевидные, вместимостью 100, 250 и 500 мл	ГОСТ 25336—82
Пипетки мерные, вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл	ГОСТ 20292—74Е
Пробирки градуированные с притертыми пробками, вместимостью 5 и 10 мл	ГОСТ 10515—75
Цилиндры мерные вместимостью 50, 100, 250 и 500 мл	ГОСТ 1770—74

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Отобранные пробы зерна, семян и соломы подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике при температуре не выше 4 °С не более трех месяцев. Зеленую массу и корнеплоды хранят в стеклянной посуде в холодильнике при температуре не выше 4 °С не более двух дней; при длительном хранении (не более трех месяцев) пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С. Пробы воды хранят при температуре не выше 4 °С в течение 2 дней, при температуре –18 °С в течение месяца.

Пробы почвы высушивают при комнатной температуре в отсутствии прямого солнечного света до воздушно-сухого состояния и хранят в темном сосуде не более трех месяцев.

Перед анализом зерно, семена и солому размалывают на мельнице, зеленую массу и корнеплоды измельчают ножом, сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1мм

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с типовыми методиками. Гексан встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока свежая порция кислоты не перестанет окрашиваться. Затем гексан последовательно промывают водой, 2 %-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют.

Этилацетат промывают равным объемом 5 %-ного раствора углекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

Диэтиловый эфир (1 л) предварительно встряхивают с 20 мл свежеприготовленного раствора железного купороса (30 г сульфата железа в 55 мл воды с добавлением 1,5 г концентрированной серной кислоты). Затем диэтиловый эфир последовательно промывают 0,5 %-ным раствором перманганата калия, 5 %-ным раствором гидроксида натрия и водой, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

Ацетонитрил сушат над пентоксидом фосфора и перегоняют; отогнанный растворитель повторно перегоняют над углекислым калием.

Этилацетат промывают равным объемом 5 %-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

При подготовке подвижной фазы № 1 для анализа феноксапроп-П-этила отмеряют 680 мл ацетонитрила, переносят в колбу на 1 000 мл, добавляют 320 мл дистиллированной воды, перемешивают, фильтруют, дегазируют.

При подготовке подвижной фазы № 2 и 3 для анализа феноксапроп-П отмеряют соответственно 550 и 540 мл ацетонитрила, переносят в колбу на 1 000 мл, добавляют 449 и 459 мл бидистиллированной воды и 1 мл ортофосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

2.5.3. Кондиционирование колонки

Промыть колонку для ВЭЖХ при анализе феноксапроп-П-этила смесью ацетонитрил–вода (68 : 32, по объему; подвижная фаза № 1), а при анализе феноксапроп-П смесью ацетонитрил–вода–ортофосфорная кислота (55 : 44,9 : 0,1, по объему; подвижная фаза № 2) в течение 30 мин при скорости подачи растворителя 1 мл/мин. Включить детектор и подождать стабилизации базовой линии (5—15 мин).

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор феноксапроп-П-этила с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 98,9% д.в., в ацетонитриле в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранят в холодильнике при температуре –12 °С не более 15 дней.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,03; 0,06; 0,15 и 0,30 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора феноксапроп-П-этила соответствующим последовательным разбавлением подвижной фазой № 1 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) непосредственно в день проведения анализа.

Основной стандартный раствор феноксапроп-П с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 99,1 % д.в., в ацетонитриле в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранят в холодильнике при температуре –12 °С не более месяца.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,01; 0,02; 0,03; 0,10 и 0,30 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора метаболита соответствующим последовательным разбавлением подвижной фазой № 2 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) непосредственно в день проведения анализа.

При изучении полноты открывания феноксапроп-П-этила и феноксапроп-П в модельных матрицах используются ацетонитрильные растворы веществ.

2.5.5. Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 50 мкл рабочего стандартного раствора феноксапроп-П-этила с концентрациями 0,03; 0,06; 0,15 и 0,30 мкг/мл или рабочего стандартного раствора феноксапроп-П с концентрациями 0,01; 0,02; 0,03; 0,10 и 0,30 мкг/мл. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение высоты хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты хроматографического пика в мм от концентрации препарата или его метаболита в растворе в мкг/мл.

2.5.6. Подготовка колонки с силикагелем и концентрирующего патрона Диапак С16 для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 0,8 см вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г силикагеля в 20 мл этилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 30 мл смеси этилацетат–метанол (1 : 1, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду и затем 20 мл этилацетата.

Концентрирующий патрон Диапак С16 промывают последовательно с помощью медицинского шприца 5 мл бидистиллированной воды и 5 мл ацетонитрила со скоростью 5 мл/мин.

2.5.7. Проверка хроматографического поведения феноксапроп-П на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора феноксапроп-П с концентрацией 10 мкг/мл, отдувают растворитель потоком теплого воздуха, остаток растворяют в 2—3 мл этилацетата и наносят на подготовленную колонку. Промывают колонку 40 мл элюента № 1 (смесь этилацетат–метанол, 7 : 3) и затем 60 мл элюента № 2 (смесь этилацетат–метанол, 6 : 4) со скоростью 1—2 капли в секунду. Отбирают фракции по 5 мл каждая, упаривают досуха, остаток растворяют в 2,5 мл подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание феноксапроп-П по п. 2.7.2.

Фракции, содержащие феноксапроп-П, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 10 мл подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.7.2. Рассчитывают содержание вещества в элюате, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

Примечание: Профиль вымывания феноксапроп-П может меняться при использовании новых партий сорбента и растворителей.

2.6. Описание определения

2.6.1. Экстракция феноксапроп-П-этила и очистка экстракта

2.6.1.1. *Вода.* Образец предварительно отфильтрованной воды объемом 100 мл помещают в делительную воронку емкостью 250 мл и обрабатывают 30 мл гексана при встряхивании в течение 1 мин. Отделяют органический слой и водную фазу экстрагируют гексаном еще дважды порциями по 20 мл. Объединенную органическую фазу пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают на роторном испарителе досуха при температуре 30 °С. Остаток количественно переносят двумя порциями (по 1 мл) смеси ацетонитрил–вода (1 : 9, по объему) в подготовленный концентрирующий патрон Диапак С16 (п. 2.5.6) и последний промывают 5 мл указанной выше смеси со скоростью 5 мл/мин. Феноксапроп-П-этил элюируют 7 мл смеси ацетонитрил–вода (2 : 8, по объему). Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 45 °С, сухой остаток растворяют в 1 мл подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание феноксапроп-П-этила по п. 2.7.1.

2.6.2 Экстракция феноксапроп-П

2.6.2.1. *Вода.* Водную фазу, оставшуюся после экстракции гексаном из п. 2.6.1.1, переносят в делительную воронку емкостью 250 мл, подкисляют 1 н HCl до pH 2 и трижды экстрагируют диэтиловым эфиром (30 + 20 + 20 мл). Объединенную органическую фазу пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают на роторном испарителе досуха при температуре 30 °С. Остаток растворяют в 1 мл подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание феноксапроп-П по п. 2.7.2.

2.6.2.2. *Почва.* Навеску (10 г) воздушно-сухой почвы помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, приливают 100 мл 80 %-ного водного раствора ацетонитрила и помещают в ультразвуковую баню на 7 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Почву еще раз экстрагируют 50 мл 80 %-ного ацетонитрила в ультразвуковой бане в течение 5 мин. Из объединенного экс-

тракта отбирают аликвоту (около 70 мл) раствора, эквивалентную 5 г почвы. Дальнейшую очистку проводят по п.п. 2.6.3 и 2.6.4.

2.6.2.3. *Зерно, семена, солома, соломка.* Навеску размолотых зерна и семян (10 г) или соломы (5 г) помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, приливают 100 мл 80 %-ного ацетонитрила и помещают в ультразвуковую баню на 7 мин. Суспензию фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Растительный материал повторно экстрагируют 50 мл 80 %-ного ацетонитила в ультразвуковой бане в течение 5 мин. Из объединенного экстракта муки или соломы отбирают аликвоту (около 70 мл) раствора, эквивалентную соответственно 5 г зерна и семян или 2,5 г соломы и соломки. Дальнейшую очистку проводят по п.п. 2.6.3 и 2.6.4.

2.6.2.4. *Зеленая масса, корнеплоды.* К навеске (25 г) измельченного материла добавляют 125 мл 80 %-ного ацетонитрила и гомогенизируют 3 мин при 10 000 об./мин, после чего суспензию помещают в ультразвуковую баню на 5 мин. К суспензии добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу на 250 мл. Осадок на фильтре промывают 50 мл 80 %-ного ацетонитрила. Из объединенного экстракта отбирают пятую часть объема (около 35 мл) раствора, эквивалентную 5 г растительной ткани. Дальнейшую очистку проводят по п.п. 2.6.3 и 2.6.4.

2.6.2.5. *Масло.* Навеску (5 г) масла помещают в коническую колбу емкостью 100 мл, приливают 50 мл 80 %-ного ацетонитрила и эмульсию энергично перемешивают в течение 30 мин на аппарате для встряхивания. Ацетонитрильную фазу осторожно декантируют в делительную воронку емкостью 200 мл, а к оставшемуся маслу приливают 50 мл 80 %-ного ацетонитрила и эмульсию перемешивают в течение 30 мин на аппарате для встряхивания. Эмульсию переносят в делительную воронку, которую помещают в холодильник на 30 мин для четкого разделения слоев. Отделяют ацетонитрильную фазу и пропускают ее через хлопковую вату в грушевидную колбу емкостью 200 мл. Дальнейшую очистку проводят по п.п. 2.6.3 и 2.6.4.

2.6.3. Очистка экстрактов

Отобранные аликвоты растительного (из п.п. 2.6.2.3, 2.6.2.4 и 2.6.2.5) и почвенного (из п. 2.6.2.2) экстрактов упаривают до объема 7—10 мл на роторном испарителе при температуре 40 °С. Водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл, приливают 15 мл бидистиллированной воды, 20 мл гексана и смесь встряхивают в течение 1 мин. Органический слой отбрасывают. Водную фазу подкисляют 1 н HCl до pH 2, переносят в делительную воронку, прибавляют 20 мл диэтилового эфира и смесь встряхивают 1 мин. Собирают органи-

ческую фазу и экстракцию водной фракции диэтиловым эфиром повторяют еще два раза (по 10 мл). Объединенную органическую фазу пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30 °С.

2.6.4. Очистка на колонке с силикагелем

Остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п. 2.6.3 экстрактов зерна, семян, зеленой массы, корнеплодов, масла и почвы, растворяют в 5 мл этилацетата и 3 мл полученного раствора вносят в подготовленную хроматографическую колонку (п. 2.5.6). Остаток экстрактов соломы и соломки льна растворяют в 3 мл этилацетата и количественно переносят в хроматографическую колонку. Колонку промывают 20 мл смеси этилацетат–метанол (7 : 3, по объему), которые отбрасывают. Метаболит элюируют 40 мл смеси этилацетат–метанол (6 : 4, по объему) и собирают элюат в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 30 °С. Сухой остаток экстрактов зерна, почвы, семян и масла подсолнечника и сои растворяют в 3 мл, экстрактов соломы и соломки льна в 5 мл, экстрактов зеленой массы, семян и масла рапса, а также семян и масла льна в 6 мл подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание метаболита по п. 2.7.2. Сухой остаток экстрактов ботвы и корнеплодов свеклы растворяют в 3 мл подвижной фазы № 3 для ВЭЖХ и анализируют на содержание метаболита по п. 2.7.3.

2.7. Условия хроматографирования

2.7.1. Феноксапроп-П-этил

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Altex (США).

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, заполненная Диасорбом 130-С16 Т, зернением 7 мкм.

Температура колонки	комнатная.
Подвижная фаза	ацетонитрил–вода (68 : 32, по объему).
Скорость потока элюента	0,8 мл/мин.
Рабочая длина волны	240 нм.
Чувствительность	0,01 ед. абсорбции на шкалу.
Объем вводимой пробы	50 мкл.
Время выхода феноксапроп-П-этила	6,8 мин.
Линейный диапазон детектирования	1,5—15,0 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,3 мкг/мл, разбавляют подвижной фазой № 1 для ВЭЖХ.

2.7.2. Феноксапроп-П

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Altex (США).

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, заполненная Диасорбом 130-С8 Т, зерненением 7 мкм.

Температура колонки	комнатная.
Подвижная фаза	ацетонитрил–вода–ортофосфорная кислота (55 : 44,9 : 0,1, по объему).
Скорость потока элюента	0,7 мл/мин.
Рабочая длина волны	240 нм.
Чувствительность	0,01 ед. абсорбции на шкалу.
Объем вводимой пробы	50 мкл.
Время выхода метаболита	6,8 мин.
Линейный диапазон детектирования	0,5—15,0 нг.
Альтернативная неподвижная фаза:	Диасорб 130-С16 Т.
Подвижная фаза	ацетонитрил–вода–ортофосфорная кислота (60 : 39,9 : 0,1, по объему).
Время выхода метаболита	5,4 мин.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,3 мкг/мл, разбавляют подвижной фазой № 2 для ВЭЖХ.

2.7.3. Феноксапроп-П

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Knauer (Германия).

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, заполненная Диасфером 110-С18, зернением 5 мкм.

Температура колонки	комнатная.
Подвижная фаза	ацетонитрил–вода–ортофосфорная кислота (54 : 45,9 : 0,1, по объему).
Скорость потока элюента	0,7 мл/мин.
Рабочая длина волны	240 нм.
Чувствительность	0,005 ед. абсорбции на шкалу.
Объем вводимой пробы	20 мкл.
Время выхода метаболита	9,5 мин.
Линейный диапазон детектирования	0,2—2,5 нг.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,3 мкг/мл, разбавляют подвижной фазой № 3 для ВЭЖХ.

2.8. Обработка результатов анализа

Содержание феноксапроп-П-этила рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{H_0 \cdot m}$$, где

X – содержание феноксапроп-П-этила в пробе, мг/дм^3;

H_1 – высота пика образца, мм;

H_0 – высота пика стандарта, мм;

A – концентрация стандартного раствора феноксапроп-П-этила, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m – объем анализируемой пробы, мл.

Содержание феноксапроп-П рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V}{H_0 \cdot m}$$, где

X - содержание феноксапроп-П в пробе, мг/кг или мг/дм^3;

H_1 – высота пика образца, мм;

H_0 – высота пика стандарта, мм;

A – концентрация стандартного раствора феноксапроп-П, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m – масса или объем анализируемой части образца, г или мл (для воды – 100 мл; для зерна, семян, зеленой массы, масла и почвы – 3 г; для соломы и соломки – 2,5 г).

При расчете содержания феноксапроп-П в эквивалентах феноксапроп-П-этила полученное значение X умножают на 1,08.

3. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами.

4. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335—95. ГСИ «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

5. Разработчики

Талалакина Т. Н.; Дубовая Л. В.; Макеев А. М., к. биол. н.

ВНИИфитопатологии, 143050, Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20.

gost.e-ecolog.ru