«УТВЕРЖДАЮ»

Главный Государственный санитарный

врач Российской Федерации

Первый заместитель Министра

Здравоохранения Российской Федерации

Г. Онищенко

5 января 2004 г.

МУК 4.1. 1849-04

Дата введения - с 1 июля 2004 г.

Методические указания

по определению остаточных количеств феноксапроп-Р-этила и феноксапропа-Р в зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

1. Вводная часть.

Фирма производитель: ЗАО Фирма «Август» (Россия)

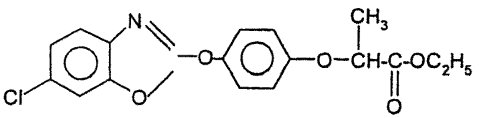
Торговое название: Ластик

77

gost.e-ecolog.ru

Действующее вещество: Феноксапроп-Р-этил

Этиловый эфир (R)-2-[[4-(6-хлор-2бензоксазолил)окси]фенокси] пропионовой кислоты (IUPAC)



Эмпирическая формула: $C_{18}H_{16}ClNO_5$

Молекулярная масса: 361.8

Бесцветное кристаллическое вещество без запаха

Температура плавления: 89-91°C.

Давление паров при 20°C: $5.3 \cdot 10^{-7}$ Па

Коэффициент распределения в системе н-октанол/вода: $\log K_{ow}=4.58$

Растворимость (в г/л растворителя) при 20°C: ацетон-200; толуол – 200; этилацетат – более 200; этанол – 24; вода - $7 \cdot 10^{-4}$.

Вещество стабильно в течение 90 дней при 50°C, не разрушается на свету. Нейтральные и, особенно, щелочные растворы нестабильны: DT_{50} составляет 1000 дней при pH 5; 100 дней при pH 7 и 2,4 дня при pH 9.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс – 3150-4000 мг/кг, для мышей – более 5000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс – более 2000 мг/кг; острая

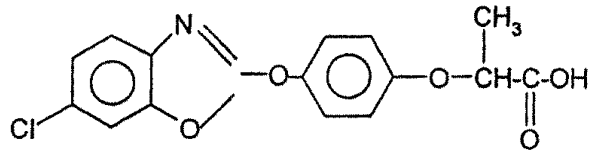
ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс более 1.224 мг/л воздуха. Феноксапроп-Р-этил не вызывает раздражения кожи. (LC_{50}) для рыб – 0.46-0.58 мг/л (96 час.)

Феноксапроп-Р-этил малотоксичен для пчел, птиц, дождевых червей.

Гигиенические нормативы (ГН 1.2.1323-03) для феноксапроп-Р-этила в России: ОДК в почве – 0.04 мг/кг; ПДК в воде водоемов– 0.0003 мг/дм^3; ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0.06 мг/м^3; МДУ для зерна хлебных злаков, моркови, свеклы столовой, подсолнечника (масло) и лука – 0.01 мг/кг, свеклы сахарной, сои – 0.05 мг/кг; капусты – 0.02 мг/кг; рапса, гороха – 0.2 мг/кг.

Основной метаболит феноксапроп-Р-этила: феноксапроп-Р.

(R)-2-[4-[(6-хлор-2-бензоксазолил)окси]фенокси]-пропионовая кислота (IUPAC)



Эмпирическая формула: $C_{16}H_{12}ClNO_5$

Молекулярная масса: 333.7

Светло-бежевое кристаллическое вещество со слабым характерным запахом

Температура плавления: 155-161°С

Давление паров при 20°С: $1.8 \cdot 10^{-4}$ Па

Коэффициент распределения в системе н-октанол/вода: $\log K_{ow}$=1.83 - 0.24 (pH 5 – pH 9)

Растворимость (в г/л растворителя) при 20°С: толуол – 0,5; метанол – 34; этилацетат – 36; ацетон - 80; вода – 0,27 (pH 5.1) и 68 (pH 7.0)

Другие физико-химические и токсикологические характеристики феноксапропа-Р отсутствуют.

Гигиенические нормативы для феноксапропа-Р в России не установлены.

Область применения препарата:

Феноксапроп-Р-этил – послевсходовый гербицид системного действия из группы ингибиторов синтеза жирных кислот. В комбинации с антидотом – мефенпир-диэтилом используется для уничтожения однолетних злаков в посевах зерновых колосовых культур в том числе ячменя, чувствительного к действию одного феноксапроп-этила. В настоящее время препарат, содержащий в качестве ДВ феноксапроп-Р-этил (69 г/л), а в качестве антидота - мефенпир-диэтил (75 г/л), под торговым названием Ластик проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ на озимой и яровой пшенице и яровом ячмене в качестве послевсходового гербицида при норме расхода 0.6 – 1.2 л/га и однократной обработке за сезон.

Феноксапроп-Р-этил – лабильное вещество и в растениях быстро метаболизируется до достаточно стабильного соединения – феноксапропа-Р.

2. Методика определения феноксапроп-Р-этила и феноксапропа-Р в зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип методики.

Методика основана на определении феноксапроп–Р–этила и его метаболита феноксапропа-Р методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в обращенно-фазовом режиме со спектрофотометрическим детектором после предварительного извлечения перечисленных компонентов водным ацетонитрилом с последующим концентрированием и очисткой экстракта в системах несмешивающихся растворителей и на колонках с сорбентами.

Количественная обработка результатов анализа проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2. Избирательность методики.

В предлагаемых условиях методика специфична в присутствии других пестицидов, применяемых в интенсивной технологии выращивания зерновых колосовых культур.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Таблица 1.

Метрологические параметры метода (P=0.95, n=20).

Анализируемый объект	Предел обнаружения, мг/кг*	Диапазон определяемой концентрации, мг/кг	Среднее значение определения, %	Отн. станд. отклонение. (σ_n/x), %	Доверит. интервал среднего, %
Феноксапроп – Р – этил					
Зерно	0.005	0.005 – 0.025	82.1	1.6	±3.1
Солома	0.01	0.01 – 0.05	78.9	1.8	±3.8
Феноксапроп – Р					
Зерно	0.004	0.004 – 0.025	77.8	1.9	±3.5
Солома	0.008	0.008 – 0.05	77.5	2.1	±3.9

*- при соотношении сигнал/ шум равном 5

Таблица 2.

Полнота определения феноксапроп-Р-этила (ФЭ) и феноксапропа-Р (Ф) в модельных матрицах (n=5)

Матрица	Внесено ФЭ или Ф, мг/кг	Открыто ФЭ или Ф, мг/кг	Доверительный интервал среднего, %
Феноксапроп-Р-этил			
Зерно	0.005	80.1	±5.0
	0.01	81.3	±4.6
	0.015	82.9	±3.7
	0.025	84.2	±3.5
Солома	0.01	75.6	±5.2
	0.02	76.9	±4.4
	0.03	80.9	±4.0
	0.05	82.1	±3.9
Феноксапроп-Р			
Зерно	0.004	75.3	±5.4
	0.01	76.1	±4.6
	0.015	79.4	±3.8
	0.025	80.5	±3.2
Солома	0.008	76.1	±5.2
	0.02	77.8	±4.4
	0.03	77.1	±3.9
	0.05	79.2	±3.1

2.2. Приборы, лабораторная посуда.

Жидкостный хроматограф высокой эффективности фирмы "Agilent Technologies", модель 1100 (США) или любой аналогичный по техническим характеристикам, оборудованный вакуумным дегазатором, термостатом колонок, спектрофотометрическим детектором с измеряемой длиной волны и любой системой подачи подвижной фазы.

Колонка аналитическая Zorbax SB C18 (США) (средний размер частиц 5 мкм) длиной 250 мм и внутренним диаметром 4.6 мм или аналогичная, испытанная фирмой-изготовителем.

Петлевой инжектор с дозировочной петлей вместимостью 20 $мм^3$.

Микрошприц для ВЭЖХ фирмы "Agilent Technologies" или любой аналогичный вместимостью 50 $мм^3$.

Прибор для получения особо чистой (деионизированной) воды «Водолей» или любой аналогичный по техническим характеристикам.

Весы лабораторные GR-200 фирмы A&D, Япония 2-го класса точности (зарегистрированы в Российском Государственном реестре средств измерений под № 18902-99) или любые аналогичные по метрологическим характеристикам.

Ванна ультразвуковая FINNSONIC OY (Финляндия) или любая аналогичная по техническим характеристикам.

Колбы мерные с притертыми или полиэтиленовыми пробками по ГОСТ 1770-74 вместимостью 50, 100 и 1000 $см^3$.

Пипетки измерительные с расширенной градуировкой и полным сливом по ГОСТ 29227-91 вместимостью 1, 2, 5 и 10 $см^3$.

Цилиндры мерные по ГОСТ 1770 вместимостью 50 и 500 $см^3$.

Колбы остродонные с пришлифованными пробками вместимостью 100 и 250 $см^3$ по ГОСТ 25336-82.

Переход с боковым отводом по ГОСТ 8682-70.

Воронки с фильтром Шотта №3 по ГОСТ 8682-70.

Воронки стеклянные по ГОСТ 8613-64.

Стеклянная колонка для препаративной хроматографии длиной около 300 мм и внутренним диаметром около 12 мм.

Стакан лабораторный типа ВН-50 вместимостью 50 $см^3$.

Колбы конические с пришлифованными пробками вместимостью 200 $см^3$ по ГОСТ 25336-82.

Воронки делительные вместимостью 100 и 500 $см^3$ по ГОСТ 25336-82.

Шкаф сушильный ШС-1/80 СПУ ПГИЖ 6819454.006 (ТУ 3443-010-00141798-01) или любой аналогичный, пригодный для поддержания температуры не менее 150°С.

Роторно-пленочный испаритель LABOROTA 4000 фирмы "Heidolph" (Германия) или аналогичный.

Насос вакуумный водоструйный по ГОСТ 10696-75.

Мельница электрическая лабораторная по ТУ 46-22-236-79 или аналогичная по техническим характеристикам.

Прибор для перегонки жидкостей при атмосферном давлении.

Источник чистого сжатого воздуха (баллон или безмасляный компрессор) или любого чистого инертного газа.

Набор для фильтрации элюентов для ВЭЖХ фирмы "MILLIPOR" или аналогичный с гидрофильными фторопластовыми мембранами типа МФФКГ пористостью 0,45 мкм по ТУ 6-55-221-1323-93.

Набор для фильтрации проб для ВЭЖХ фирмы "MILLIPOR" или аналогичный с капроновыми мембранами пористостью 0,2 мкм.

РН-метр-иономер ЭКСПЕРТ-001 фирмы «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ» (ТУ 4215-001-52722949) или любой аналогичный по техническим характеристикам.

Электрод стеклянный комбинированный типа ЭСК-1060117 (ТУ 4215-004-35918409).

Стекловата, отмытая гексаном и высушенная при температуре 150°С.

2.3. Реактивы и растворители.

Стандартный образец феноксапроп–Р-этила с содержанием основного вещества 98.4 мас. %.

Стандартный образец феноксапропа–Р с содержанием основного вещества 99.1 мас. %.

Ацетонитрил марки «осч» (ТУ 6-09-14-2167).

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709, деионизированная (удельная проводимость не более 0,12 мкS/см).

Гексан марки «хч» по ТУ 6-09-3375-78.

Железо (II) сернокислое марки "хч" по ГОСТ 4148-78.

Калия перманганат марки "хч" по ГОСТ 20490-75.

Кальция хлорид марки "хч" по ГОСТ 4161-77.

Кислота ортофосфорная марки "хч" по ГОСТ 6552-80.

Кислота серная марки "хч" по ГОСТ 4204-77.

Кислота хлористоводородная марки "хч" по ГОСТ 3118-77.

Гидроксид натрия марки "хч" по ГОСТ 4328-77.

Сульфат натрия безводный марки "хч" по ГОСТ 4166-76.

Карбонат натрия марки "хч" по ГОСТ 83-63.

Метанол марки "хч" по ГОСТ 6995.

Этилацетат марки "хч" по ГОСТ 22300-76.

Эфир диэтиловый медицинский по ГОСТ 6265-74.

Азот сжатый балонный марки "осч" по ГОСТ 9293-74.

Оксид алюминия для хроматографии нейтральный со средним размером частиц 70 мкм.

Силикагель для хроматографии фирмы Merck (grade 60, 70 – 230 mesh, 60 A).

Элюент I для препаративной колоночной хроматографии: смесь этилацетата и гексана (3:97 по объему).

Элюент II для препаративной колоночной хроматографии: смесь этилацетата и гексана . (1:4 по объему).

Элюент III для препаративной колоночной хроматографии: смесь этилацетата и метанола (7:3 по объему).

Подвижная фаза № 1 для ВЭЖХ: смесь ацетонитрила и воды в объемном соотношении 3:2.

Подвижная фаза № 2 для ВЭЖХ: смесь ацетонитрила, воды и ортофосфорной кислоты в объемном соотношении 49.5:50:0.5.

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).

Пробы подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при температуре не выше 4°С не более 3 месяцев; перед анализом образцы размалывают на мельнице.

2.5. Подготовка к анализу

2.5.1. Подготовка и очистка растворителей и реактивов

Органические растворители перед началом работы очищают в соответствии с типовыми методиками. Гексан встряхивают в делительной воронке с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до прекращения визуально наблюдаемого окрашивания свежей порции кислоты. Затем гексан последовательно промывают водой, 2 %-ным водным раствором гидроксида натрия, после чего сушат над гидроксидом натрия и перегоняют.

Этилацетат встряхивают в делительной воронке с равным объемом 5 %-ного раствора карбоната натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют над свежепрокаленным при 150°С оксидом алюминия.

Диэтиловый эфир (1 $дм^3$) последовательно встряхивают в делительной воронке с 20 $см^3$ свежеприготовленного подкисленного раствора железного купороса (30 г сульфата железа и 1.54 г концентрированной серной кислоты в 55 $см^3$ воды), затем с 50 $см^3$ 0.5 %-ного раствора перманганата калия, затем с 50 $см^3$ 5 %-ного раствора гидроксида натрия и, наконец, с 50 $см^3$ воды, после чего сушат над хлористым кальцием и перегоняют над свежепрокаленным при 150°С оксидом алюминия.

Оксид алюминия для хроматографии очищают многократной промывкой водой, отжимают на фильтре Шотта, трижды промывают метанолом и высушивают при 140°С в течение 15 часов.

Силикагель для хроматографии трижды промывают метанолом на фильтре Шотта и высушивают при 140°С в течение 15 часов.

2.5.2. Приготовление подвижных фаз для ВЭЖХ

Подвижная фаза № 1 для ВЭЖХ (для определения феноксапроп-Р-этила).

Отдельно фильтруют ацетонитрил и чистую дистиллированную деионизированную воду.

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 600 $см^3$ ацетонитрила и доводят объем до метки дистиллированной деионизированной водой. Содержимое колбы тщательно перемешивают.

Подвижная фаза № 2 для ВЭЖХ (для определения феноксапропа-Р).

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают 0.5 $см^3$ ортофосфорной кислоты, прибавляют 500 $см^3$ отфильтрованной дистиллированной деионизированной воды и доводят объем до

метки ацетонитрилом. Содержимое колбы тщательно перемешивают.

2.5.3. Кондиционирование хроматографической колонки для ВЭЖХ

Колонку промывают 25 $см^3$ ацетонитрила, затем подвижной фазой в течение 25 минут при скорости подачи элюента 1 $см^3$ / мин. Включают детектор и продолжают прокачивать элюент до стабилизации нулевой линии.

2.5.4. Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор феноксапроп-Р-этила с концентрацией 100 – 150 мкг/$см^3$ готовят растворением 10 – 15 мг стандартного образца феноксапроп-Р-этила с содержанием основного вещества 98.4 мас. % в ацетонитриле в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$. Раствор хранят в холодильнике при температуре не выше -12°С не более 15 суток.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0.05, 0.1, 0.15 и 0.25 мкг/$см^3$ готовят из основного стандартного раствора феноксапроп-Р-этила соответствующим последовательным разбавлением подвижной фазой №1 для ВЭЖХ (п. 2.5.2).Растворы хранят в холодильнике не более суток.

Основной стандартный раствор феноксапропа-Р с концентрацией 100 – 150 мкг/$см^3$ готовят растворением 10 – 15 мг стандартного образца феноксапропа-Р с содержанием основного вещества 99.1 мас. % в ацетонитриле в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$. Раствор хранят в холодильнике при температуре не выше -12°С не более 15 суток.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0.04, 0.1, 0.15 и 0.25 мкг/см^3 готовят из основного стандартного раствора феноксапропа-Р соответствующим последовательным разбавлением подвижной фазой №2 для ВЭЖХ (п. 2.5.2).Растворы хранят в холодильнике не более суток.

2.5.5. Построение калибровочных графиков

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 50 мкл рабочего стандартного раствора феноксапроп-Р-этила с концентрацией 0.05, 0.1, 0.15 и 0.25 мкг/см^3 или рабочего стандартного раствора феноксапропа-Р с концентрацией 0.04, 0.1, 0.15 и 0.25 мкг/см^3. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений для каждой концентрации каждого вещества. Для каждого вещества строят калибровочный график зависимости площади хроматографического пика в относительных единицах от концентрации вещества в растворе в мкг/см^3.

2.5.6. Подготовка препаративной колонки с оксидом алюминия для очистки сконцентрированного экстракта феноксапроп-Р-этила

В нижнюю часть колонки помещают небольшой тампон из стекловаты, закрывают кран и приливают 10 см^3 гексана. Затем в колонку быстро заливают при помощи стеклянной воронки суспензию 5 г оксида алюминия в 20 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, после чего пропускают через колонку раствор 170 мг воды в 30 см^3 этилацетата со скоростью 1-2 капли в секунду, затем 10 см^3 гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него 2 г безводного сульфата натрия. Колонку промывают 10 см^3 гексана, после чего она готова к работе.

2.5.7. Проверка хроматографического поведения феноксапроп-Р-этила на колонке с оксидом алюминия

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ отбирают 0.05 $см^3$ стандартного раствора феноксапроп-Р-этила с концентрацией 100 – 150 $мкг/см^3$, удаляют растворитель слабым потоком чистого сжатого воздуха или инертного газа, остаток количественно переносят тремя порциями по 1 $см^3$ гексана на подготовленную колонку. Промывают колонку 20 $см^3$ смеси этилацетат-гексан (3:97 по объему), затем 60 $см^3$ смеси этилацетат-гексан (1:4 по объему) со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 5 $см^3$ каждая, упаривают досуха, растворяют в 2-5 $см^3$ подвижной фазы №1 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание феноксапроп-Р-этила по п. 2.7.1. Рассчитывают содержание вещества в каждой фракции элюата, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Хроматографический профиль феноксапроп-Р-этила может меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.5.8. Подготовка препаративной колонки с силикагелем для очистки сконцентрированного экстракта феноксапропа-Р

В нижнюю часть колонки помещают небольшой тампон из стекловаты, закрывают кран и приливают 10 $см^3$ этилацетата. Затем в колонку быстро заливают при помощи стеклянной воронки суспензию 5 г силикагеля в 20 $см^3$ этилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента, после чего пропускают через колонку 30 $см^3$ смеси этилацетат-метанол (1:1 по объему), затем 10 $см^3$ этилацетата. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него 2 г безводного сульфата натрия.

Колонку промывают 20 $см^3$ этилацетата, после чего она готова к работе.

2.5.9. Проверка хроматографического поведения феноксапропа-Р на колонке с силикагелем

В круглодонную колбу вместимостью 10 $см^3$ отбирают 0.05 $см^3$ стандартного раствора феноксапроп-Р-этила с концентрацией 100 – 150 $мкг/см^3$, удаляют растворитель слабым потоком чистого сжатого воздуха или инертного газа, остаток количественно переносят тремя порциями по 1 $см^3$ этилацетата на подготовленную колонку. Промывают колонку 20 $см^3$ этилацетата, затем 90 $см^3$ смеси этилацетат-метанол (7:3 по объему) со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 5 $см^3$ каждая, упаривают досуха, растворяют в 2-5 $см^3$ подвижной фазы №2 для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание феноксапропа-Р по п. 2.7.2. Рассчитывают содержание вещества в каждой фракции элюата, определяют полноту смывания с колонки и необходимый для очистки объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Хроматографический профиль феноксапропа-Р может меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.6. Описание определения

2.6.1. Экстракция феноксапроп-этила и феноксапропа – Р

Навеску размолотого зерна (10 г) или соломы (5 г) помещают в коническую колбу, прибавляют 100 $см^3$ 80 %-ного водного раствора ацетонитрила и помещают в ультразвуковую ванну на 3 минуты. Полученный экстракт переносят (декантируют) на фильтр Шотта, присоединенный через переходник к грушевидной колбе, и

фильтруют при помощи водоструйного насоса. Остаток растительного материала в конической колбе повторно экстрагируют в ультразвуковой ванне в течение 3 минут, полученный экстракт фильтруют в ту же грушевидную колбу. Фильтрат выпаривают на роторно-пленочном испарителе при температуре не выше 45°С до водной фазы объемом около 15 $см^3$.

2.6.2. Выделение фракций, содержащих феноксапроп-Р-этил и феноксапроп-Р

Водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$, прибавляют 15 $см^3$ деионизированной воды и феноксапроп-Р-этил экстрагируют гексаном тремя порциями по 20 $см^3$. Отдельно собирают водный и объединенный органический слой, причем органический слой (гексановая вытяжка) собирают в остродонную колбу, последовательно пропуская каждую его порцию через слой (около 3 г) безводного сульфата натрия.

Водный слой подкисляют соляной кислотой до pH около 2, переносят в ту же делительную воронку, прибавляют 30 $см^3$ гексана и смесь интенсивно встряхивают в течение одной минуты. Органический слой отбрасывают. Содержащийся в водном слое феноксапроп-Р экстрагируют диэтиловым эфиром тремя порциями по 20 $см^3$. Объединенный органический слой (эфирная вытяжка) собирают в отдельную остродонную колбу, последовательно пропуская каждую его порцию через слой (около 3 г) безводного сульфата натрия.

2.6.3. Очистка сконцентрированной гексановой вытяжки на колонке с оксидом алюминия

Объединенную гексановую вытяжку, содержащую феноксапроп-Р-этил, из п. 2.6.2., выпаривают практически досуха на роторно-пленочном испарителе при температуре не выше 45°С. Остаток продувают досуха слабой струей сжатого воздуха или инертного газа. Сухой остаток растворяют при помощи ультразвуковой ванны в гексане и количественно переносят тремя порциями по 1 $см^3$ на подготовленную по п. 2.5.6. колонку с оксидом алюминия. Дают раствору стечь до верхнего края сорбента, колонку промывают 20 $см^3$ смеси этилацетат-гексан (3:97 по объему) и элюат отбрасывают. Феноксапроп – Р –этил элюируют 40 $см^3$ смеси этилацетат-гексан (1:4 по объему), элюат собирают в чистую остродонную колбу и выпаривают практически досуха на роторно-пленочном испарителе при температуре не выше 40°С. Остаток продувают досуха слабой струей сжатого воздуха или инертного газа. Сухой остаток растворяют при помощи ультразвуковой ванны в 1 $см^3$ подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ, приготовленного по пункту 2.5.2. и анализируют на содержание феноксапроп-Р-этила по п. 2.7.1.

2.6.4. Очистка сконцентрированной эфирной вытяжки на колонке с силикагелем

Объединенную эфирную вытяжку, содержащую феноксапроп-Р, из п. 2.6.2., выпаривают практически досуха на роторно-пленочном испарителе при температуре не выше 40°С. Остаток продувают досуха слабой струей сжатого воздуха или инертного газа. Сухой остаток растворяют при помощи ультразвуковой ванны в этилацетате и количественно переносят тремя порциями по 1 $см^3$ на подготовленную по п. 2.5.8. колонку с

силикагелем. Дают раствору стечь до верхнего края сорбента, колонку промывают 20 $см^3$ этилацетата и элюат отбрасывают. Феноксапроп – Р элюируют 60 $см^3$ смеси этилацетат-метанол (7:3 по объему), элюат собирают в чистую остродонную колбу и выпаривают практически досуха на роторно-пленочном испарителе при температуре не выше 40°С. Остаток продувают досуха слабой струей сжатого воздуха или инертного газа. Сухой остаток растворяют при помощи ультразвуковой ванны в 1 $см^3$ подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ, приготовленного по пункту 2.5.2., и анализируют на содержание феноксапропа – Р по п. 2.7.2.

2.7. Условия хроматографирования

2.7.1. Феноксапроп-Р-этил

Жидкостный хроматограф высокой эффективности фирмы "Agilent Technologies", модель 1100 (США).

Колонка аналитическая Zorbax SB C18 (США) (средний размер частиц 5 мкм) длиной 250 мм и внутренним диаметром 4.6 мм.

Температура термостата колонки: 25°С

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода в объемном соотношении 3:2.

Объемный расход элюента: 1 $см^3$/мин

Рабочая длина волны детектора: 240 нм

Объем вводимой пробы: 50 $мм^3$

Чувствительность: 0.001 ед. абсорбции на шкалу

Время удерживания феноксапроп-Р-этила: 21.2 минут

Линейный диапазон детектирования: 1 – 5 нг

Время записи одной хроматограммы: 35 мин:

Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-С16 Т (колонка длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм и зернением 7 мкм).

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода (68:32 по объему)

Время удерживания феноксапроп-Р-этила: 6.8 минут (при скорости потока элюента 0.8 $см^3$/мин).

Образцы, в которых площадь пика феноксапроп-Р-этила больше, чем в стандартном растворе с концентрацией 0.25 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой №1 для ВЭЖХ.

2.7.2. Феноксапроп-Р

Жидкостный хроматограф высокой эффективности фирмы "Agilent Technologies", модель 1100 (США).

Колонка аналитическая Zorbax SB C18 (США) (средний размер частиц 5 мкм) длиной 250 мм и внутренним диаметром 4.6 мм.

Температура термостата колонки: 25°С

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода- ортофосфорная кислота в объемном соотношении 49.5:50:0.5.

Объемный расход элюента: 1 $см^3$/мин

Рабочая длина волны детектора: 240 нм

Объем вводимой пробы: 50 $мм^3$

Чувствительность: 0.002 ед. абсорбции на шкалу

Время удерживания феноксапропа-Р: 5.3 минут

Линейный диапазон детектирования: 0.8 – 5 нг

Время записи одной хроматограммы: 30 мин:

Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-С16 Т (колонка длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм и зернением 7 мкм).

Подвижная фаза: ацетонитрил – вода – ортофосфорная кислота (60:39.9:0.1 по объему)

Время удерживания феноксапропа-Р: 5.4 минуты (при скорости потока элюента 0.8 $см^3$/мин).

Образцы, в которых площадь пика феноксапропа-Р больше, чем в стандартном растворе с концентрацией 0.25 мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой №2 для ВЭЖХ.

2.8. Обработка результатов анализа

Содержание феноксапроп-Р-этила в анализируемом образце ($X_{фенРэ}$, мкг/кг) вычисляют методом абсолютнои калибровки по формуле:

$$X_{фенРэ} = \frac{S_1 * C}{S_o * M}, \text{ где}$$

C – концентрация стандартного раствора феноксапроп-Р-этила, мкг/$см^3$.

M – масса навески образца (для зерна – 10 г, для соломы – 5 г).

S_1 – площадь пика феноксапроп-Р-этила на хроматограмме анализируемого образца, отн. ед.;

S_o – площадь пика феноксапроп-этила на хроматограмме стандартного раствора феноксапроп-Р-этила, отн. ед.

Содержание феноксапропа-Р в анализируемом образце ($X_{фенР}$, мкг/кг) вычисляют методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X_{фенР} = \frac{S_1 * C}{S_o * M}, \text{ где}$$

C – концентрация стандартного раствора феноксапропа-Р, мкг/см^3.

M – масса навески образца (для зерна – 10 г, для соломы – 5 г).

S_1 – площадь пика феноксапропа-Р на хроматограмме анализируемого образца, отн. ед.;

S_o – площадь пика феноксапропа-Р на хроматограмме стандартного раствора феноксапропа-Р, отн. ед.

При расчете содержания феноксапропа-Р в эквиваленте феноксапроп-Р-этила полученное значение $X_{фенР}$ умножают на 1.08.

3. ТРЕБОВАНИЯ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ.

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

4. Разработчики:

Белов М.Ю., руководитель группы аналитической химии, канд. хим. наук. ЗАО Фирма «Август», 129515, Москва, ул. Цандера, д. 6, тел. 787-84-91или 962-82-44.

Подпись руки М.Ю. Белова заверяю

Директор по персоналу Сухорукова

Макеев А.М., зав. лабораторией, канд. биол. наук.

ВНИИ фитопатологии, 143050, Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-86.

Подпись руки А.М. Макеева заверяю

gost.e-ecolog.ru